

WILSON FRANCISCO SCHREINER BUSATO JÚNIOR

**ESTUDO COMPARATIVO ENTRE VASOVASOSTOMIA COM  
ADESIVO DE FIBRINA E MICRO-SUTURA CONVENCIONAL EM  
RATOS *WISTAR***

**Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação  
em Clínica Cirúrgica, Setor de Ciências da  
Saúde, Universidade Federal do Paraná, como  
requisito parcial à obtenção do título de  
Doutor em Clínica Cirúrgica.**

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos de Almeida  
Rocha

Coordenador: Prof. Dr. Jorge Eduardo Fouto  
Matias

**CURITIBA  
2005**

À minha querida **Soraia**,  
companheira dessa longa jornada chamada vida,  
eterno e delirante amor, sonho que insisto em viver acordado.

Aos meus filhos **Rafaella** e **Felippe**, significado maior da palavra  
ternura, que a vida alce vôo nas asas dos seus sonhos.

À minha mãe, **Sara**, exemplo de mulher, que soube, a meia altura da vida mostrar sua capacidade empreendedora e altivez profissional. São em pessoas assim que devemos nos espelhar.

Ao meu pai, **Wilson**, exemplo de trabalho, honestidade e amizade pelo ser humano cujo maior sonho é ver os outros felizes.

## AGRADECIMENTOS

Ao **Prof. Dr. Luiz Carlos de Almeida Rocha**, orientador deste trabalho, amigo, por sua paciência, dedicação e ensinamentos tão bem transmitidos, características próprias de um grande homem.

Ao **Prof. Dr. Jurandir Marcondes Ribas Filho**, um pilar da pós-graduação cirúrgica no país, responsável pelo sucesso do mestrado e um grande amigo.

Ao **Prof. Dr. Carlos Ary Vargas Souto**, urologista cujo caráter, ética profissional e humana são um farol a nortear jovens urologistas.

Ao **Prof. Sebastião José Westphal**, amigo, parceiro nas conquistas profissionais. A vida prova mais uma vez que as pessoas que aparecem no nosso caminho podem ser melhor do que quando as escolhemos.

A **Profa. Dra. Maria Regina Orofino Kreuger** pelos seus ensinamentos e paciência na análise das peças de histologia. Muito Obrigado.

Ao **Dr. Carlos Teodósio Da Rós**, um irmão de vida, alguém especial e iluminado pelo desejo do conhecimento, responsável pela minha opção pela urologia.

Meus amigos e **colegas de doutorado**, pessoas que aprendi a respeitar pelo profissionalismo e capacidade de empreendimento.

A médica **Amândia Mônica Marquetti**, exemplo de dedicação aos enfermos e à pesquisa, pela ajuda inigualável neste experimento.

A **Universidade Federal do Paraná**, grande centro de excelência na Pós-Graduação médica no país, por ter proporcionado um conhecimento que me acompanhará pelo resto da vida.

A **Universidade do Vale do Itajaí** pela determinação que tem demonstrado em garantir o aprimoramento docente e pelo apoio neste projeto.

Aos amigos do **Instituto Catarinense de Urologia (INCAU)**, refúgio de trabalho e ponto de partida dos primeiros passos deste estudo. Pelo suporte humano e financeiro a este projeto.

Enfim, a todos aqueles que acreditam que a motivação científica faz ruir as amarras da mediocridade.

Todo animal deixa vestígios do que ele foi. Só o homem deixa vestígios do que ele criou  
[...] O homem não é uma figura na paisagem. Ele é um modelador da paisagem.

JACOB BRONOWSKI  
*The ascent of man* (1973)

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>viii</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>ix</b>
<b>LISTA DE QUADROS.....</b>	<b>x</b>
<b>LISTA DE GRÁFICOS .....</b>	<b>xi</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>xii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xiii</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>01</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>03</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	03
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	03
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>04</b>
3.1 HISTÓRICO .....	04
3.2 APLICAÇÕES DO ADESIVO DE FIBRINA EM UROLOGIA .....	05
3.3 VASOVASOANASTOMOSE .....	06
3.4 DO ADESIVO DE FIBRINA .....	09
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>12</b>
4.1 MATERIAIS .....	12
4.1.1 Normas e Local .....	12
4.1.2 Animais de Experimentação .....	12
4.1.3 Adesivo de fibrina .....	13
4.2 MÉTODOS .....	13
4.2.1 Divisão dos Grupos .....	13
4.2.2 Preparo pré-operatório .....	14
4.2.3 Anestesia .....	14
4.2.4 Técnica operatória .....	14
4.2.5 Pós-operatório .....	18
4.2.6 Coleta dos dados .....	19
4.2.6.1 Taxa da paternidade .....	19
4.2.6.2 Avaliação histológica .....	20
4.2.6.3 Avaliação da permeabilidade .....	21
4.2.6.4 Tempo operatório .....	23
4.2.7 Análise estatística .....	24

<b>5 RESULTADOS</b>	25
5.1 ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO	25
5.2 TAXA DE PATERNIDADE	25
5.3 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA	26
5.4 PERMEABILIDADE DA ANASTOMOSE	30
5.5 TEMPO OPERATÓRIO	31
<b>6 DISCUSSÃO</b>	32
6.1 ADESIVO DE FIBRINA	33
6.2 VASOVASOSTOMIA	35
6.3 TAXA DE PATERNIDADE	36
6.4 FORMAÇÃO DE GRANULOMA	37
6.5 HISTOLOGIA DO DUCTO DEFERENTE	40
6.6 PERMEABILIDADE DA ANASTOMOSE	42
6.7 TEMPO OPERATÓRIO	44
<b>7 CONCLUSÕES</b>	46
<b>REFERÊNCIAS</b>	47
<b>APÊNDICES</b>	56
<b>ANEXOS</b>	62

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Mecanismo fisiológico da ação dos componentes do adesivo de fibrina .....	12
<b>Figura 2</b> – Rato <i>Wistar</i> anestesiado e fixado ao campo operatório .....	15
<b>Figura 3</b> – Exposição do ducto deferente direito com ligadura com seda 4-0.....	15
<b>figura 4</b> – Vasectomia a direita .....	16
<b>Figura 5</b> – Técnica de vasovasostomia com microscópio cirúrgico (segundo Leonard e Thomas, 1987).....	16
<b>Figura 6</b> – Vasovasostomia em plano único .....	17
<b>Figura 7</b> – Alinhamento dos cotos do ducto deferente com fio mononylon 10-0.....	17
<b>Figura 8</b> – Seringa para aplicação do adesivo de fibrina.....	18
<b>Figura 9</b> – Aplicação do adesivo de fibrina na anastomose .....	19
<b>Figura 10</b> – Saída de espermatozoides no coto distal a vasovasostomia .....	22
<b>Figura 11</b> – Espermatozoides da secreção obtida do coto distal a vasovasostomia .....	22
<b>Figura 12</b> – Mecanismo para avaliação da permeabilidade pelo fluxo através da anastomose do deferente .....	23
<b>Figura 13</b> – Coto do ducto deferente em vasovasostomia com adesivo selante de fibrina .....	27
<b>Figura 14</b> – Ducto deferente de rato submetido a vasovasostomia com adesivo selante de fibrina .....	29



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1 –</b>	Análise da permeabilidade e da taxa de gravidez em artigos científicos publicados entre 1981 e 2000 .....	08
<b>Tabela 2 –</b>	Análise da permeabilidade e da taxa de gravidez entre vasovasostomias com um e dois planos de sutura.....	09
<b>Tabela 3 –</b>	Número de ratos que obtiveram prenhez após 6 semanas nos grupos controle (Grupo I), vasovasostomia com sutura convencional (Grupo II) e com adesivo de fibrina (Grupo III) .....	25
<b>Tabela 4 -</b>	Comparação entre o número de granulomas na região da anastomose e a ocorrência de paternidade nos grupos II e III .....	27
<b>Tabela 5 -</b>	Comparação entre o número de granulomas na região da anastomose e a permeabilidade da anastomose nos grupos II e III .....	28
<b>Tabela 6 –</b>	Avaliação do exudato neutrofílico nas bordas da anastomose após 45 dias entre os grupos com sutura convencional (grupo II) e com adesivo de .....	28
<b>Tabela 7 –</b>	Avaliação da reepitelização da luz de ductos deferentes 45 dias após vasovasostomia por sutura convencional (Grupo II) e adesivo de fibrina (Grupo III) .....	29
<b>Tabela 8 –</b>	Avaliação da reorganização das fibras de colágeno 45 dias após vasovasostomia com sutura convencional (grupo II) e com adesivo de fibrina (Grupo III) .....	30
<b>Tabela 9 –</b>	Avaliação da permeabilidade da anastomose após vasovasostomia com sutura convencional (Grupo II) e adesivo de fibrina (Grupo III).....	31
<b>Figura 10 –</b>	Avaliação do tempo operatório e de anastomose em vasovasostomias com sutura convencional (Grupo II) e adesivo de fibrina (Grupo III).....	31

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1 –</b>	Escala utilizada para avaliar o exsudato neutrofílico na vasovasostomia pela coloração com hematoxilina-eosina .....	22
<b>Quadro 2–</b>	Critérios para a avaliação da reepitelização dos ductos deferentes após 45 dias .....	21
<b>Quadro 3–</b>	Critérios para a avaliação da reorganização das fibras de colágeno em vasovasostomia de ratos <i>Wistar</i> .....	21

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1 –</b>	Comparação do número de granulomas na região da anastomose com sutura convencional (grupo II) e com adesivo de fibrina (grupo III) .....	26
<b>Gráfico 2 –</b>	Avaliação da permeabilidade da vasovasoanastomose com relação aos parâmetros avaliados .....	30

## RESUMO

Dos mais de 30 milhões de casais que usam a vasectomia como método anticoncepcional, cerca de 2% a 6% realizam reversão. O padrão-ouro para tratamento da azoospermia obstrutiva permanece sendo a vasovasostomia termino-terminal com microcirurgia, mas ainda exige longo tempo operatório, treinamento especializado e experiência em microcirurgia. O objetivo deste estudo é obter os mesmos resultados da sutura convencional, mas com redução do tempo operatório, mediante uma técnica mais simples. Foram utilizados 60 ratos *Wistar* divididos em três grupo: I. vinte no grupo controle, II. 20 com microsutura convencional em um plano a esquerda e III. 20 com adesivo de fibrina a esquerda. Todos os animais foram vasectomizados à direita. Após 4 semanas cada rato ficou por até 2 semanas com duas fêmeas. Avaliou-se a taxa de paternidade, a permeabilidade da anastomose, a formação de granulomas no local da anastomose e o tempo operatório. A taxa de paternidade foi de 85% no grupo I, 80% no grupo II e 70% no grupo III, sem diferença estatística ( $p=0,01$ ). No grupo II houve 3,6 granuloma/rato, ocorrendo granuloma em 75% dos ratos, enquanto no grupo III 4,2 e 85%, respectivamente, apresentando diferença estatística entre os grupos ( $Z=6,25$ ;  $p=0,01$ ). A ocorrência de granulomas na área da anastomose parece não interferir com a possibilidade de paternidade nos ratos estudados ( $\chi^2= 0,2562$ ), nem com a permeabilidade ( $Z= 0,1513$ ). A presença de infiltrado neutrofílico, reepitelização do ducto deferente e reorganização das fibras colágenas não mostrou diferença entre os grupos ( $p=0,5$ ). A anastomose foi considerada permeável em 75% do grupo II contra 80% do grupo III, sem diferença estatística ( $p<0,01$ ). O tempo operatório médio foi de  $41,7 \pm 2,49$  e  $28,55 \pm 1,14$  minutos nos grupos II e III ( $F=21,76$ ;  $p=0,0001$ ) e o tempo para a anastomose de  $24,6 \pm 1,8$  e  $9,35 \pm 0,78$  minutos, respectivamente ( $F=57,26$ ;  $p=0,0001$ ), ambos estatisticamente diferentes. Pelos resultados obtidos podemos concluir que a vasovasostomia de ratos com adesivo selante de fibrina apresenta resultados semelhantes à técnica de microcirurgia convencional, porém com redução do tempo operatório e simplificação técnica.

Palavras-chave: Vasovasostomia; Adesivo tecidual de fibrina; Microcirurgia

## ABSTRACT

The vasectomy is performed by more than 30 million couples in the world like method of controlling fertility and about 2% to 6% of patients requesting reversal. Microsurgical termino-terminal procedures are currently the gold standard for vasectomy reversal with optimal results, but it yet expend prolonged operative time and demanding special training and experience in microsurgery. The objective of this study is to reach the same optimal results of conventional suture technique but with reduced operative time. Sixty *Wistar* male adults rats were divided into 3 groups: I. 20 rats in control group, II. 20 with conventional one-layer micro suture and III. 20 with fibrin selante adhesive. A right side vasectomy was performed in all animals. After four weeks each rat was left up to two weeks with two female rats. It were evaluated the fertility and patency rates, presence of anastomosis granulomas and operative time. The fertility rate was of 85% in group I, 80% in group II and 70% in group III, with no statistic difference ( $p=0.01$ ). In group II were 3,6 granuloma/rat, with granuloma in 75% of rats, while in group III 4,2 and 85%, respectively, with statistic relevance ( $Z=6,25$ ;  $p=0.01$ ). The presence of granulomas did not modify the paternity rates in the rats ( $\chi^2= 0,2562$ ) neither with patency rates ( $Z= 0,1513$ ). Anastomosis was considered with patency in 75% of rats in group II against 80% in group III ( $p>0.05$ ). The overall operative time was of  $41.7 \pm 2.49$  and  $28.55 \pm 1,14$  minutes in groups II e III ( $p<0.05$ ) and the time to anastomosis of  $24.6 \pm 1.8$  and  $9.35 \pm 0,78$  minutes ( $p<0.05$ ), respectively. With this results we can conclude that the vasovasostomy with fibrin sealant adhesive have the same results of conventional microsurgery technique but with reduced operative time and simplified procedure.

Key words: Vasovasostomy; Fibrin tissue adhesive; Microsurgery

# INTRODUÇÃO

---

## 1 INTRODUÇÃO

Dentre as opções para o controle da natalidade, pode-se citar os anticoncepcionais orais, preservativos, dispositivos intra-uterinos (DIU) e laqueadura tubária (HALBE *et al.*, 1979). Aqueles são passíveis de falha e este requer um procedimento operatório de maior complexidade. A opção por um procedimento seguro e confiável, como a vasectomia, tem aumentado desde o final dos anos 60 (SCHROEDER-PRINTZEN; DIEMER; WEIDNER, 2003). Como consequência, tem havido paralelamente um aumento das solicitações de reversões. Além disso, progressivamente mais casais utilizam a vasectomia como método provisório de anticoncepção (NAUGHTON; MYLES; THOMAS, 2004).

Atualmente, mais de 30 milhões de casais em todo o mundo usam a vasectomia como método de controle da natalidade. Estima-se que até 6% dos homens vasectomizados procuram pela reversão (POTTS *et al.*, 1999), sendo que 3,5% efetivamente serão submetidos a uma vasovasostomia (ENGELMAN *et al.*, 1990). Nos Estados Unidos, entre 600.000 e 1 milhão de vasectomias são feitas anualmente (ROBERTS, 1979), resultando numa expectativa de 21 a 35 mil vasovasostomias.

A vasectomia eletiva, como método contraceptivo, é a causa mais comum de obstrução do canal deferente (SCHROEDER-PRINTZEN; DIEMER; WEIDNER, 2003). Mas também outras causas, como lesões iatrogênicas durante diferentes tipos de cirurgias na infância, como herniorrafia inguinal, criptorquidia e hidrocele (PARKHOUSE; HENDRY, 1991; ROSS; FLOM, 1991; SANDHU; OSBORN; MUNSON, 1992) tem sido descritas. A herniorrafia inguinal na infância parece ser um fator de risco significativo para lesão obstrutiva dos ductos deferentes, ocorrendo em cerca de 8% dos procedimentos (MATSUDA, 2000). Infecções do trato urogenital também podem ser causa de azoospermia obstrutiva, principalmente quando causadas por *Clamídea trachomatis* ou *Mycoplasma sp.*, mas não são freqüentes (HENDRY; LEVISON; PARKINSON *et al.*, 1990).

Incorporada ao tratamento da infertilidade a partir de 1978, a microcirurgia tornou possível o tratamento dos pacientes portadores de azoospermia obstrutiva, particularmente nos casos decorrentes de vasectomias (SROUGI; ARAP, 1986; DONOVAN, 1995). Diversas técnicas já foram descritas para restabelecer a permeabilidade do ducto deferente, não havendo um consenso de qual é a melhor. A discussão começa quanto ao uso de uma ou duas camadas de sutura (SHARLIP, 1981; LEONARD; THOMAS, 1987), quanto ao uso de técnica microcirúrgica ou apenas com o auxílio de lupa (SHARLIP, 1981; LEE, 1986; RODRIGUES NETTO JÚNIOR *et al.*, 1986; DURÁN; ROCA, 1990; SCHOYSMAN, 1990; BELKER *et al.*, 1991) e ainda com relação ao uso de modeladores (*stent*) no lúmen do ducto deferente (REDMAN, 1982; NIEDERBERGER *et al.* 1993; ROTHMAN *et al.*, 1997). Mas a discussão prossegue, mais recentemente, entre a vasovasostomia ou técnicas de manipulação de gametas *in vitro*, como a injeção intracitoplasmática de espermatozóide (ICSI) (HEIDENREICH; ALTMANN; ENGELMANN, 2000).

As várias opções técnicas utilizando micro-anastomose mostram um bom resultado, tanto em relação à permeabilidade da anastomose quanto às taxas de gravidez. Com estas técnicas, taxas de permeabilidade entre 80% e 90% com gravidez entre 50% e 80% têm sido relatadas (FENSTER; McLOUGHLIN, 1981; OWEN; KAPILA, 1984; SILBER, 1989; FOX, 1994; CLARO *et al.*, 1996; LEMACK; GOLDSTEIN, 1996; GOLDSTEIN; LI; MATTHEWS, 1998; SCHROEDER-PRINTZEN; DIEMER; WEIDNER, 2003). Ou seja, as várias técnicas descritas apresentam resultados semelhantes. Assim, o objetivo maior é procurar uma técnica ou alguma modificação que torne o procedimento mais rápido e que possa ser realizado pelo urologista generalista (SILVERSTEIN; MELLINGER, 1991; SEAMAN *et al.*, 1997).

Avanços na tecnologia da solda de tecidos humanos com laser têm sido incorporados na reanastomose de vasos sangüíneos em animais de experimentação (SCHALENBERG *et al.*, 1990; ANIDJAR *et al.*, 1996). Recentemente, o uso de adesivo tecidual, baseado em fibrina, têm surgido particularmente em neurocirurgia, cirurgia



otorrinolaringológica e gastrointestinal para anastomose de nervos, vasos sangüíneos e ducto biliar.

A hipótese a ser testada é a de que a anastomose de ducto deferente de ratos com adesivo de fibrina, apresenta resultados semelhantes à técnica de microcirurgia convencional, porém com menor tempo operatório.

Para testar a hipótese serão avaliadas, especificamente:

- I. a taxa de paternidade em ambos os grupos;
- II. a permeabilidade do ducto deferente após a vasovasostomia;
- III. a formação de granuloma no local da vasovasostomia;
- IV. as diferenças histológicas no processo regenerativo após seis semanas;
- V. o tempo operatório e de anastomose.

# **REVISÃO DE LITERATURA**

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 HISTÓRICO

A primeira anastomose do ducto deferente, descrita na literatura, data do final do século XIX (MAYO; MAYO, 1895). Quase ao mesmo tempo, em 1909, Bergel relatou o uso de plasma seco para ajudar na hemostasia de feridas sangrantes. Durante a Primeira Guerra Mundial, retalhos de fibrina foram utilizados para o controle de sangramentos parenquimatosos em neurocirurgia (GREY, 1915).

O primeiro uso clínico bem definido da fibrina como adesivo, foi para anastomose microcirúrgica de nervos periféricos (SEDDON, 1942). Entretanto, a qualidade das primeiras preparações era pobre no que tange a concentração de fibrinogênio e de fibrina (SHEKARRIZ; STOLLER, 2002).

Em 1944, Cronkite, Lozner e Deaver obtiveram maior rapidez na formação do coágulo pela adição de trombina bovina, mas a falta de tecnologias de fracionamento, para produzir fontes purificadas de fibrinogênio tornava a capacidade adesiva abaixo da esperada (RADOSEVICH; GOUBRAN; BURNOUF, 1997).

Somente na década de 1970, foi possível produzir fibrinogênio liofilizado em grande quantidade, além de trombina e fator VIII (SHEKARRIZ; STOLLER, 2002).

Em 1972, Matras *et al.*, descreveram a aplicação com sucesso da cola de fibrina para reparo de nervo periférico, num método bastante semelhante aos comercialmente utilizados hoje.

No entanto, quando estava para ter seu uso difundido nos Estados Unidos, o risco de transmissão de algumas viroses pelo fibrinogênio humano fez com que os adesivos de fibrina tivessem uma importante diminuição no seu uso comercial (GIBBLE; NESS, 1990).

Na Europa, há registros da aplicação de adesivo a base de fibrina por mais de uma década em hemostasias após trauma esplênico ou

biopsia de fígado, cirurgia ginecológica, linfostase após linfadenectomia e em anastomose durante ureterotomia e pieloplastia (MERGUERIAN; RABINOWITZ, 1986; POPPAS *et al.*, 1997).

No Brasil, Reicher *et al.* (2002) mostraram melhores resultados hemodinâmicos com o adesivo de fibrina sobre a sutura vascular convencional.

## 2.2 APLICAÇÕES DO ADESIVO DE FIBRINA EM UROLOGIA

Apesar do amplo uso dos adesivos de fibrina em cirurgia cardíaca e do trauma, sua utilização em urologia ainda se resume a estudos experimentais em animais, revisões de literatura e relato de caso (SHEKARRIZ; STOLLER, 2002). Para se ter uma idéia da pouca experiência, nos Estados Unidos, apenas três produtos comerciais estão aprovados para uso em trauma de baço, fechamento do cólon e cirurgia cardíaca.

A primeira descrição do uso em lesões do parênquima renal para fins de hemostasia já faz quase trinta anos (BRAUN *et al.*, 1977).

Papadopoulos, Schnapka e Kelami (1985) usaram, pela primeira vez, adesivo de fibrina para fechar fístulas vesicovaginais em animais, comparando com o fechamento por sutura. Houve 30% de recorrência no grupo da sutura e nenhuma com adesivo.

Pfab *et al.* (1987) descreveram a injeção de adesivo selante pelo orifício da nefrostomia para prevenir hemorragia após nefrolitotomia percutânea.

Schneider, Patel e Hertel (1992) trataram endoscopicamente com injeção de adesivo de fibrina 6 pacientes com fístulas vésico-vaginais e obtiveram taxas de sucesso de 66% com adesivo e 88% com sutura convencional.

Lapini *et al.* (1994) descreveram o uso em 64 casos de nefrectomia parcial em pacientes portadores de tumor renal. Não tiveram nenhuma hemorragia ou infecção.

Eden *et al.* (1997) utilizaram adesivo de fibrina em 9 pieloplastias, sendo 8 por laparoscopia, com apenas alguns pontos de ancoragem. O tempo médio operatório foi de 180 minutos e o exame radiológico após 1 a 2 anos foi satisfatório, concluindo ser uma técnica rápida e segura.

Janetschek *et al.* (1998) relataram 7 pacientes submetidos a exereses de tumor renal (tumorectomia) por vídeo-laparoscopia onde houve um melhor controle do sangramento pelo uso do adesivo de fibrina.

Hafez *et al.* (2004) avaliaram o uso de cola de fibrina na correção de curvatura peniana em um modelo de coelhos. Demonstraram um bom efeito hemostático recobrando o defeito criado na túnica albugínea, com regeneração normal de nova túnica após 6 semanas.

## 2.3 VASOVASOANASTOMOSE

Silber (1977a) realizou reanastomose mucosa-mucosa por microcirurgia em humanos, com permeabilidade de 91% e gravidez em 71%.

Na revisão de vasovasostomias feita por Yarbo e Howards (1987), a técnica macroscópica resultou em permeabilidade de 38 a 90% e gravidez de 19 a 55%, enquanto a manipulação por lupa de 68 a 92% e gravidez 45 a 78%. Estes autores concluíram que o uso de lupa melhorou seus resultados.

Engelmann *et al.* (1990) observaram que somente 32% dos urologistas europeus realizam vasovasoanastomose pela técnica microscópica, enquanto 58,5% utilizam ampliação com lupa e 9,5% técnica macroscópica. Quanto à permeabilidade, identificaram 72,6%, 73,7% e 97,5% para técnica macroscópica, lupa-assistida e para técnicas microscópicas, respectivamente, concluindo pela superioridade das técnicas microcirúrgicas.

Silverstein e Melliinger (1990), compararam as vasoanastomoses com sutura e com adesivo de fibrina em ratos. Com seguimento de três

meses, identificaram uma permeabilidade de 90% no grupo com sutura e 86% no grupo de adesivo de fibrina e formação de glanuloma em 60% no primeiro grupo e 28% no segundo grupo. Estes autores concluem que a permeabilidade é semelhante, mas a formação de granuloma é menor com o uso do selante de fibrina.

Durán e Roca (1990) compararam vasovasostomias por três diferentes técnicas, com sutura absorvível, inabsorvível e com adesivo de fibrina e concluíram que usando vicryl os resultados são superiores ao adesivo de fibrina e a sutura inabsorvível.

Ball *et al.* (1993), em seu levantamento bibliográfico, relatam dados de permeabilidade entre 75 e 96% e gravidez de 43 e 75%, embora comentem uma dificuldade nas técnicas de micro-sutura. Em estudo de comparação de reanastomose com adesivo de fibrina e sutura em ratos, estes mesmo autores obtiveram uma permeabilidade de 89% no grupo com adesivo e 76% no grupo com sutura. A taxa de formação de granuloma no grupo com adesivo foi metade daquela do grupo com sutura (18% vs 39%). Houve também diminuição no tempo operatório, tendo o grupo com adesivo de fibrina realizado em metade do tempo da operação vasovasooanastomose por sutura.

Neiderberger *et al.* (1993) relataram anastomose, usando somente adesivo de fibrina. Observaram a permeabilidade equivalente ao padrão da anastomose por sutura, com diminuição do tempo operatório.

Em nosso meio, avaliando a reversão de vasectomias por micro-sutura em humanos, Claro *et al.* (1996) encontraram índice de gravidez de 90,9%.

Vankemmel *et al.* (1997) realizaram anastomose do ducto deferente com adesivo de fibrina e demonstraram diminuição no tempo operatório, as custas de uma diminuição no poder de tensão dos cotos com relação à técnica convencional de sutura. Estes autores referem ainda, não haver predisposição à atrofia testicular e seus estudos histológicos evidenciaram degradação espontânea do adesivo, sem resíduo detectável na anastomose.

Seaman *et al.* (1997) submeteram 10 ratos a

vasovasooanastomose bilateral. Em um dos lados por micro-sutura e no outro por soldadura com laser. Os animais foram sacrificados após 30 dias e se obteve permeabilidade de 80% na sutura e 90% pelo laser e a presença de granuloma não foi diferente nos dois grupos.

Vankemmel *et al.* (1998) argumentaram que talvez a teoria do granuloma espermático como válvula de pressão do sistema canalicular intra-testicular não se justifique. Para isso, eles compararam vasovasostomias com adesivo de fibrina onde utilizaram 2 ou 3 pontos prévios para alinhamento dos cotos. Com apenas 2 pontos houveram mais granulomas (80%) e menos fertilidade (30%) do que com 3 pontos, com 40% e 80%, respectivamente.

Heidenreich, Altmann e Engelmann (2000) compararam vasovasostomia com aspiração epididimária ou extração testicular de espermatozóides e posterior injeção intracitoplasmática de esperma (ICSI) em termos de gravidez, complicações e custos. Concluíram que a vasovasostomia tem mais sucesso em termos de gravidez (52 vs. 22,5%) e que deveria ser a primeira escolha.

Kobayashi *et al.* (2001) compararam a vasovasostomia convencional com microcirurgia com o uso de grampos vasculares. Concluíram que o tempo operatório foi menor na anastomose com grampos e a permeabilidade da anastomose e a formação de granuloma foram similares.

Andonian *et al.* (2002) avaliaram a ultraestrutura do deferente de homens não vasectomizados e vasectomizados e concluíram que o lúmen do deferente distal à vasectomia, praticamente não existia, com o epitélio reduzido à uma fina camada celular e suas células se tornando indiferenciadas pela ausência de fluído seminal, o que poderia explicar a maior taxa de permeabilidade associada à uma baixa taxa de gravidez.

SIGMAN (2004) analisou a relação entre a qualidade do esperma captado no coto proximal do deferente no momento da vasovasostomia com a permeabilidade em 53 pacientes. Com uma taxa de permeabilidade de 98%, não houve diferença quanto à qualidade dos espermatozóides.

A análise de vários trabalhos descritos na literatura (TABELA 1), avaliando a permeabilidade da vasovasostomia e a taxa de gravidez, demonstra valores de 47-99% e 30-82%, respectivamente.

**QUADRO 1 - ANÁLISE DA PERMEABILIDADE E DA TAXA DE GRAVIDEZ EM ARTIGOS CIENTÍFICOS PUBLICADOS ENTRE 1981 E 2000**

REFERÊNCIA	n	Permeabilidade (%)	Gravidez (%)
Fenster e MCLOUGHLIN (1981)	26	96	54
Owen e Kapila (1984)	475	92	82
Marmar <i>et al.</i> (1986)	61	89	51
Silber, (1989)	326	91	81
Fox (1994)	103	85	48
Matthews <i>et al.</i> (1995)	100	99	52
Lemack e Goldstein (1996)	229	90	-
Rothman <i>et al.</i> (1997)	106	81	51
Yamamoto <i>et al.</i> (1997)	30	47	30
Weiske, (1997)	376	89	-
Goldstein <i>et al.</i> (1998)	194	99	54
Heidenreich <i>et al.</i> (2000)	157	77	52
<b>Número total</b>	<b>2.183</b>		
Variação		47 – 99	30 – 82
Média ± Desvio Padrão		87 ± 13	52 ± 17

Uma discussão que ainda toma lugar no meio científico mundial, é quanto à realização da microsutura em um ou dois planos (SHARLIP, 1981; FISCHER; GRANTMYRE, 2000). A análise de alguns artigos publicados nos últimos anos (TABELA 2) não mostra de maneira inequívoca superioridade de uma técnica sobre a outra quanto à permeabilidade e taxas de gravidez (SCHROEDER-PRINTZEN; DIEMER; WEIDNER, 2003).



**QUADRO 2 – ANÁLISE DA PERMEABILIDADE E DA TAXA DE GRAVIDEZ ENTRE VASOVASOSTOMIAS COM UM E DOIS PLANOS DE SUTURA**

REFERÊNCIA	TÉCNICA	n	PERMEABILIDADE (%)	GRAVIDEZ (%)
Sharlip (1981)	UP	9	100	67
	DP	8	100	75
Lee (1986)	UP	139	89	50
	DP	185	91	52
Schoysman (1990)	UP	230	79	48
	DP	80	92	51
Fischer e Grantmyre (2000)	UP	17	88	-
	DP	23	90	-
Número total	UP	395	89 ± 8	56 ± 9
	DP	296	91 ± 5	57 ± 12

NOTA: UP: um plano; DP: dois planos

## 2.4 DO ADESIVO DE FIBRINA

O efeito vedante da fibrina baseia-se no estágio final da cascata da coagulação (ANEXO 1). Assim, o fibrinogênio e a trombina levam à formação de um coágulo de fibrina estável na presença de fator XIII e íon cálcio. Este mecanismo de ação foi descrito inicialmente por Morawitz em 1905 (citado por FURLAM, 1988).

O fibrinogênio (fibrinopeptídio A e B) é quebrado em monômeros de fibrina pela ação da trombina, através de uma proteólise (FIGURA 1). A seguir, os monômeros de fibrina formam ligações cruzadas entre si, pela ação do fator XIII e íon cálcio, formando coágulos estáveis (MACHOVICH, 1984; ICHINOSE; DAVIE, 1988; SHEKARRIZ; STOLLER, 2002). Com a atividade cicatricial em curso, ocorre uma maior ação fibrinolítica ativada pela plasmina. No adesivo, a aprotinina inibe a ação da plasmina, evitando a fibrinólise rápida do coágulo.

O adesivo de fibrina pode ser produzido a partir de várias ou de

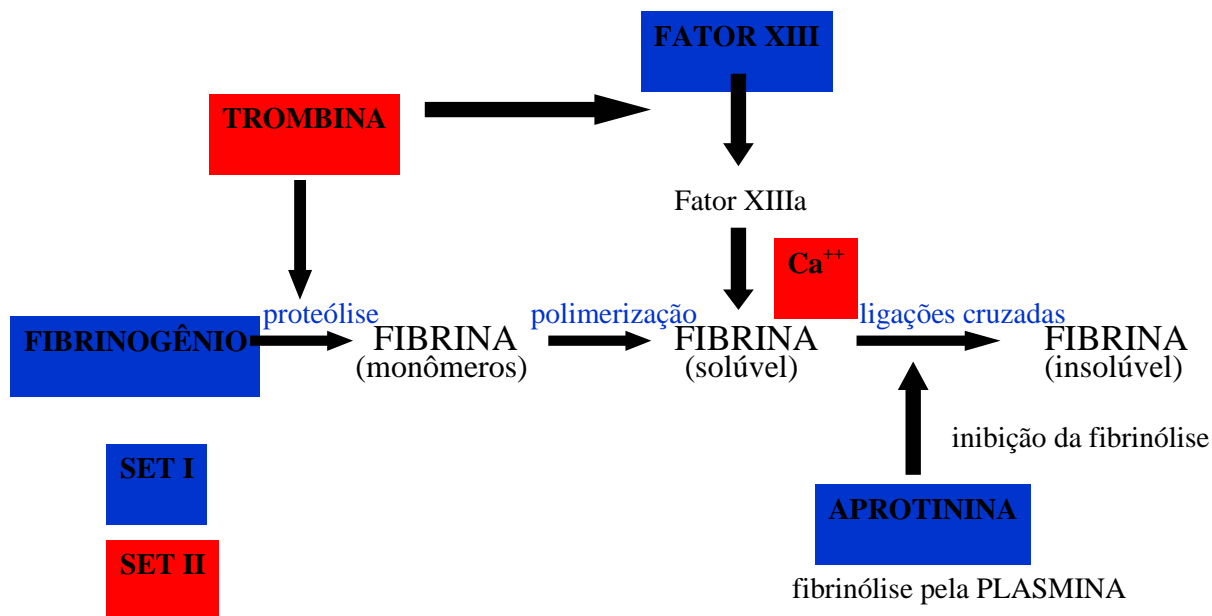
uma única fonte doadora. Esta última pode ser alogênica ou autóloga (SHEKARRIZ; STOLLER, 2002). Comercialmente, provém de vários doadores e é composto por um *set* (Set I) contendo fibrinogênio, fator XIII e solução de aprotinina e um segundo *set* (Set II) com trombina humana e solução de cloreto de cálcio. Pode ser aplicada em gotas ou borrifada sobre a área necessitada.

O fibrinogênio humano é uma  $\beta_2$ -globulina com alto peso molecular, entre 330 e 340 kD que, após ser quebrado em fibrina, forma a rede de sustentação para o coágulo (FURLAM, 1988).

A aprotinina é um inibidor polivalente de proteases, com peso molecular de 6,5 kD. Como tal, inibe fortemente a plasmina e também as calicreínas, tendo um efeito antifibrinolítico (McDONAGH, 1987). A aprotinina utilizada é obtida a partir do tecido pulmonar bovino.

A trombina humana é uma serina protease com peso molecular de 3 kD (GUYTON, 1984). Trata-se de uma enzima com várias funções, mas sua ação principal é a conversão do fibrinogênio em fibrina (MACHOVICH, 1984). Além disso, a trombina e os íons de cálcio ativam o fator XIII.

Os íons de cálcio são necessários, tanto para a ativação do fator XIII quanto para mantê-lo ativo (McDONAGH, 1987; ICHINOSE; DAVIE, 1988). Os íons cálcio também influenciam na polimerização e estabilização da fibrina, através das ligações cruzadas (FURLAM, 1988).



**FIGURA 1 –** MECANISMO FISIOLÓGICO DA AÇÃO DOS COMPONENTES DO ADESIVO DE FIBRINA

O metabolismo fisiológico do coágulo, inclui a degradação da fibrina pela plasmina e fagocitose subsequente pelos macrófagos. Após algumas horas da formação do coágulo, ocorre proliferação de fibroblastos e com um dia, a migração de granulócitos e macrófagos. Com três dias de coágulo, há reabsorção do coágulo pelos macrófagos e neovascularização (McDONAGH, 1987; FURLAM, 1988). Mesmo havendo reabsorção entre quatro e sete dias, ocorre proliferação de fibras de colágeno e após quatorze dias o coágulo torna-se completamente organizado.

Como o fibrinogênio, o fator XIII e a trombina são obtidos a partir de plasma humano, é importante uma avaliação eficaz do risco de transmissão de eventuais doenças.

# **MATERIAL E MÉTODOS**

---

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAL

##### Normas e Local

Foram respeitadas as normas técnicas do COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal) e as normas bioéticas da Universidade Federal do Paraná (UFPR) e da Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI).

O projeto foi aprovado pelas Comissões de Ética da UNIVALI, UFPR e Departamento de Clínica Cirúrgica da UFPR.

O experimento foi realizado no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental (TOCE) da Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI), no período de agosto de 2003 à julho de 2004.

Foram aplicadas as Normas para Referências Bibliográficas (NBR 6023) de 1989 e Normas para a apresentação de citações em documentos (NBR 10520) de 1988 da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Seguiu-se as Normas de Apresentação de Trabalhos da Universidade Federal do Paraná (UFPR) de 2000.

A nomenclatura científica utilizada está de acordo com a *Nomina Anatômica Veterinária* de 1983.

##### 3.1.1 Animais de Experimentação

Foram utilizados 60 ratos *Wistar* machos (*Rattus norvegicus albinus*, *Rodentia Mamalia*), com peso médio entre 220-320 gramas e idade de 90 dias, fornecidos pelo Biotério de Roedores da Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI).

Utilizou-se 120 ratas *Wistar* para determinar a taxa de fertilidade de cada grupo, sendo duas fêmeas para cada macho. Todas as fêmeas com idade de 90 dias, mantidas em gaiolas isoladas por 30 dias antes do experimento, vindas do Biotério de Roedores da UNIVALI. As fêmeas não foram sacrificadas, sendo devolvidas a UNIVALI após o término do período gestacional, assim como suas crias.

Utilizou-se neste experimento microscópio cirúrgico D.F. Vasconcellos M-900 (D. F. Vasconcellos S.A., Santos, SP. Brazil).

### 3.1.2 Adesivo de Fibrina

Utilizou-se o composto comercial denominado Beriplast<sup>®</sup>P, (Aventis Behring) (ANEXO 2), composto de dois frascos que são injetados mediante uso de uma seringa dupla (vide pág. 20).

## 3.2 MÉTODOS

### 3.2.1 Divisão dos Grupos

Os animais foram divididos da seguinte forma:

GRUPO I - 20 (vinte) ratos no grupo controle, submetidos à vasectomia direita e exposição do ducto deferente esquerdo;

GRUPO II- 20 (vinte) ratos submetidos à vasectomia direita e vasovasostomia com sutura convencional à esquerda;

GRUPO III- 20 (vinte) ratos submetidos à vasectomia direita e vasovasostomia com adesivo de fibrina à esquerda.

### 3.2.2 Preparo pré-operatório

Todos os animais foram inicialmente pesados e submetidos à profilaxia com penicilina cristalina 2.000 unidades/Kg de peso, por via intramuscular na coxa. Os animais foram mantidos por 3 a 5 dias no local do experimento para reduzir o estresse, respeitando-se o ciclo de iluminação natural.

### 3.2.3 Anestesia

Os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico intraperitoneal na dose de 50mg/Kg de peso. Aguardando-se a perda do reflexo corneano para iniciar o ato operatório.

### 3.2.4 Técnica Operatória

Procedeu-se inicialmente a epilação manual da região escrotal e os procedimentos foram realizados sob condições assépticas. O procedimento técnico sistematizado consistiu na fixação do animal através da preensão dos quatro membros ao campo operatório em decúbito dorsal (Fig. 2).

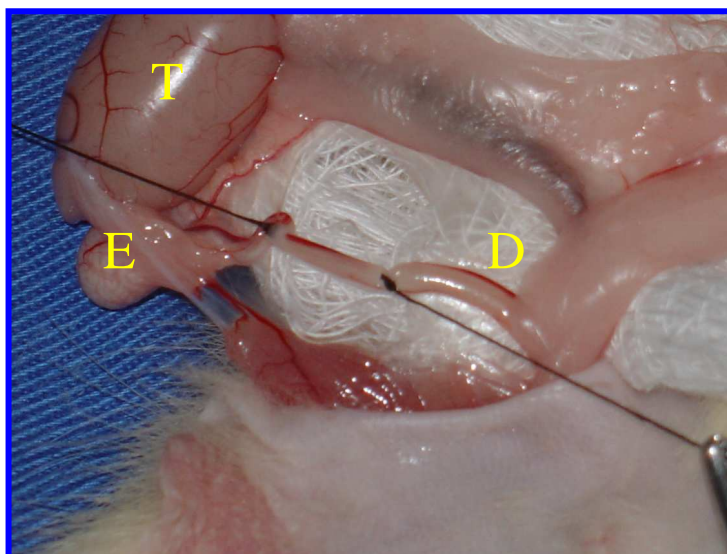


**FIGURA 2 – RATO ANESTESIADO E FIXADO AO CAMPO OPERATÓRIO**

Após a antissepsia com PVP-iodo 10% (polivinilpirrolidona e iodo), realizou-se uma incisão bilateral no escroto, com a identificação e individualização do deferente em todos os ratos (Fig. 3).

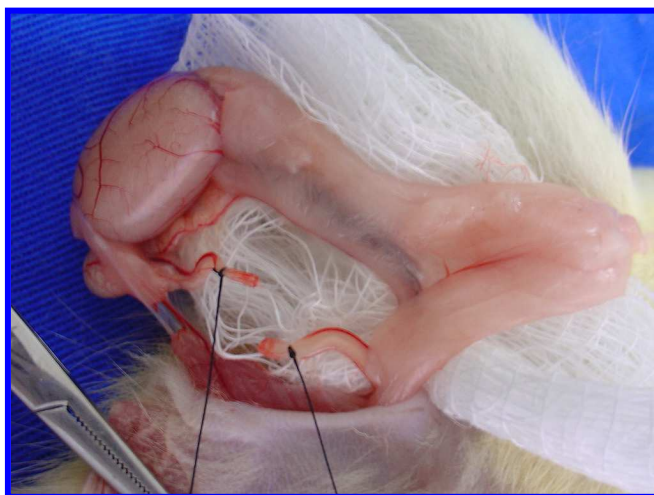
No grupo I, realizou-se a secção do deferente do lado direito com lâmina de bisturi entre ligaduras com seda 4-0 (Ethicon Ltda.). No lado esquerdo, após a liberação do deferente, procedeu-se a sutura da pele com categut cromado 3-0.





**FIGURA 3** – EXATÃO DO DUCTO DEFERENTE DIREITO COM LIGADURA COM SEDA 4-0. T: testículo, E: epidídimo, D: Ducto deferente. Aumento de 8X.

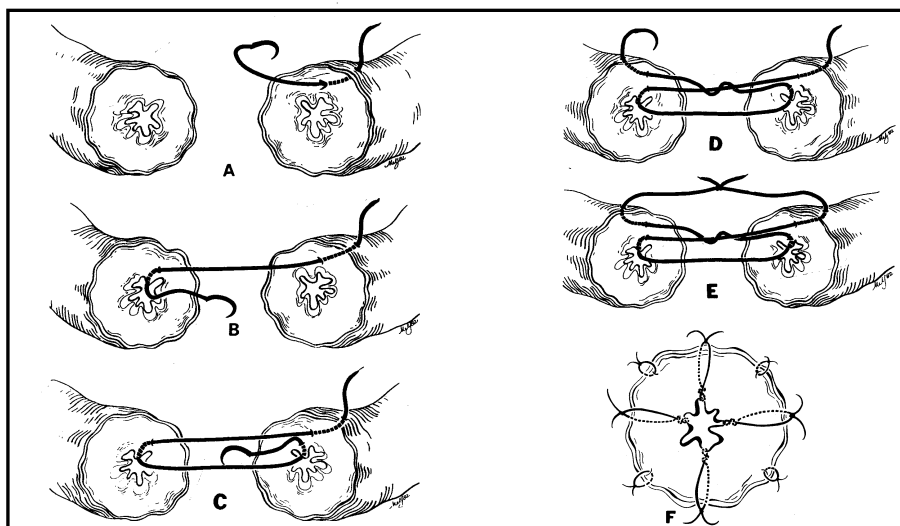
No grupo II, realizou-se a secção dos ductos deferentes do lado direito com lâmina de bisturi e ligadura com seda 4-0 dos cotos (Fig. 4).



**FIGURA 4** – VASECTOMIA A DIREITA. Aumento de 6X.

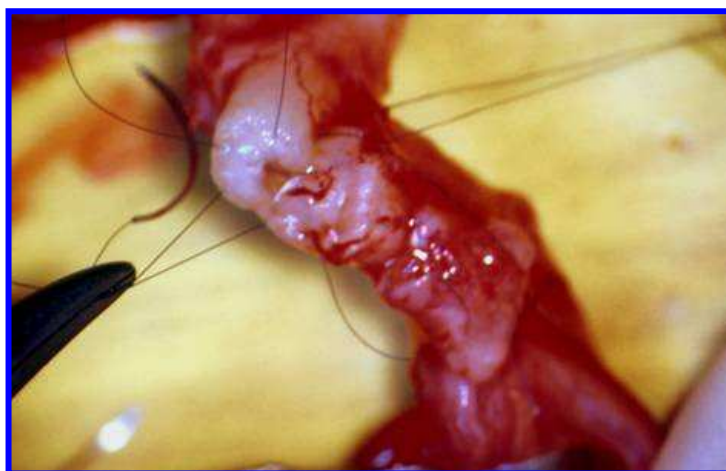
No lado esquerdo procedeu-se a dissecação da artéria vasal e secção do ducto com retirada de pequeno fragmento com 2 a 4 mm, seguindo-se anastomose dos cotos com fio de mononylon 10-0 (Ethicon® Ltda.) em plano único (Fig. 5),

conforme a técnica descrita por LEONARD e THOMAS (1987) com microscópio cirúrgico com aumento de 25X.



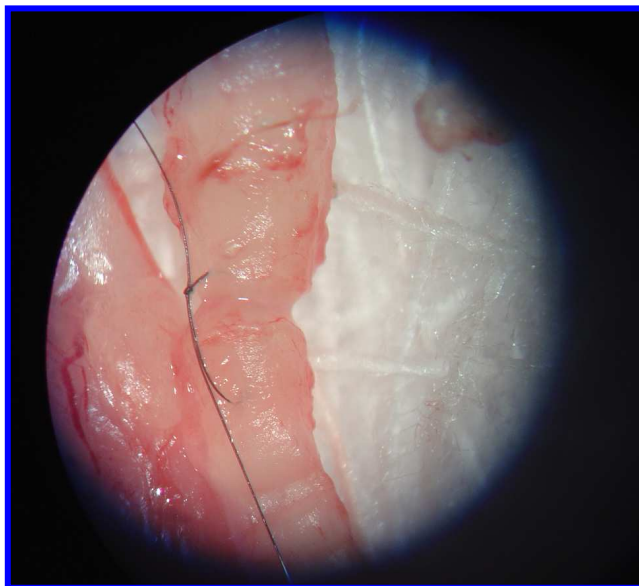
**FIGURA 5** – TÉCNICA DE VASOSOSTOMIA COM MICROSCÓPIO CIRÚRGICO (SEGUNDO LEONARD E THOMAS, 1987). (A) primeira passada na serosa; (B) primeira passada na mucosa; (C) segunda passada na mucosa; (D) cruzamento dos fios e segunda passada na serosa; (E) nó para aproximar ambas as camadas e (F) anastomose terminada.

Esta técnica consiste na passagem do fio da camada muscular da parte externa para interna de um coto, penetrando na camada muscular contra-lateral saindo pela luz do canal (Fig. 6).



**FIGURA 6** – VASOVASOSTOMIA EM PLANO ÚNICO. Aumento de 25X.

Para o grupo III, após a secção dos deferentes, também com lâmina de bisturi, foi feita a ligadura dos cotos com fio seda 4-0 no lado direito.



**FIGURA 7** – ALINHAMENTO DOS COTOS DO DUCTO DEFERENTE COM FIO MONONYLON 10-0. Aumento de 25X.

No lado esquerdo foi feita a aproximação dos cotos através de 3 pontos de ancoragem com mononylon 10-0 (Ethicon Ltda.) correspondentes as 4, 8 e 12 horas, trans-mural e alinhando os cotos (Figura 7). Cada ponto distante radialmente do outro em 120°.

Após a aplicação de 1 ou gotas de adesivo de fibrina, mediante utilização de uma seringa fornecida pelo fabricante (Figura 8). Manteve-se a aproximação por 3 minutos até a solidificação completa do gel adesivo (Figura 9).

### 3.2.5 Pós-operatório

Os animais ficaram em gaiolas individuais por 4 semanas com controle diário. Ao final deste período, cada macho foi deixado em uma gaiola com duas fêmeas por até 2 semanas (WEISS; MELLINGER,

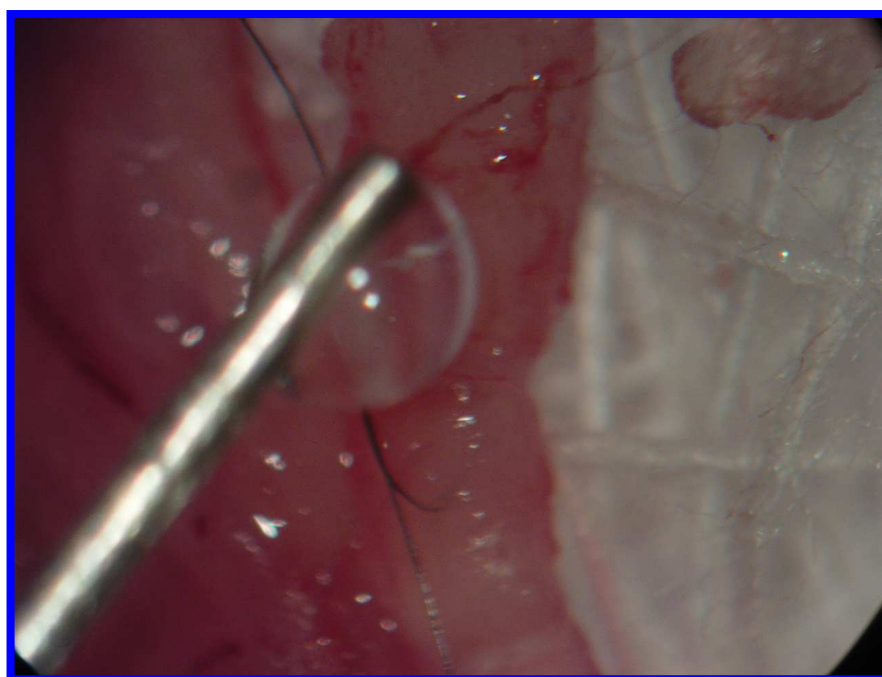
1992).



**FIGURA 8** – SERINGA PARA A APLICAÇÃO DO ADESIVO DE FIBRINA

Durante este período de 6 semanas, os animais machos e fêmeas receberam ração e água *ad libitum*. Uma ficha de acompanhamento foi sendo preenchida em dias alternados.

Uma vez completado o experimento os animais foram submetidos a eutanásia em câmara fechada com exposição ao CO<sub>2</sub>.



**FIGURA 9** – APLICAÇÃO DO ADESIVO DE FIBRINA NA ANASTOMOSE.  
Aumento de 25

### 3.2.6 Coleta dos dados

Os critérios para a coleta e análise dos dados estão a seguir discriminados.

#### 3.2.6.1 Taxa de paternidade

A hipótese a ser testada é a existência de diferença na taxa de prenhes entre os três grupos. Para determinar a taxa de paternidade, foi verificada a prenhes das fêmeas em cada um dos grupos em estudo, mediante o acompanhamento do período gestacional, até que se confirme inequivocamente a gestação. Neste caso, a prenhes de uma única fêmea já foi considerado positivo, com o mesmo valor estatístico dos casos onde as duas fêmeas do mesmo macho ficaram prenhas.

#### 3.2.6.2 Avaliação histológica

Inicialmente avaliou-se a presença ou não de granuloma no local da anastomose. Não foram diferenciados os granulomas de esperma daqueles por fios de sutura.

A avaliação histológica do local da anastomose, foi obtida pela confecção de lâminas do sítio cirúrgico com demarcação de 0,5cm proximal e distal a partir do local da anastomose. Este material foi fixado em formalina, desidratado em álcool etílico a 70%, clareado em xilol e embebido em parafina em estufa a 60 graus centígrado. O bloco de inclusão foi seccionado em intervalos de 4 µm de espessura. O método de coloração foi pela Hematoxilina-Eosina (HE) e Tricomo de Gomori (Anexo 3), adotando-se os seguintes critérios:

**a) Com a coloração de Hematoxilina-Eosina, avaliou-se:**

- a quantidade do exsudato de neutrófilos nas bordas da anastomose;
- as alterações do epitélio (rompido ou desnaturado);
- o processo de reepitelização (presença ou não de projeções epiteliais, a espessura do novo epitélio - espesso ou delgado, e aspecto semelhante ao do grupo controle - o edema do tecido conjuntivo e as reações vasculares).

A quantidade do exsudato neutrofílico nos campos microscópicos foi sistematizada de acordo com a Quadro 1.

**QUADRO 3 – ESCALA UTILIZADA PARA AVALIAR O EXSUDATO NEUTROFÍLICO NA VASOVASOSTOMIA PELA COLORAÇÃO COM HEMATOXILINA-EOSINA**

GRAU	DESCRIÇÃO
1	acentuado exsudato de neutrófilos, ou seja, quando a quantidade de células inflamatórias não permite reconhecer estruturas como vasos sangüíneos e o colágeno
2	de moderado a esparso exsudato de neutrófilos, ou seja, quando há condições de reconhecer vasos sangüíneos e o colágeno
3	ausência de exsudato neutrofílico

A reepitelização do ducto deferente no local da vasovasostomia após 45 dias foi sistematizada de acordo com os códigos descritos na Quadro 2.

**QUADRO 4 – CRITÉRIOS PARA A AVALIAÇÃO DA REEPITELIZAÇÃO DOS DUCTOS DEFERENTES APÓS 45 DIAS**

CRITÉRIO	DESCRIÇÃO
1	ausência de sinais de reepitelização ou sinais de reepitelização inicial
2	novo epitélio, delgado ou mais espesso
3	novo epitélio semelhante ao original

**b) Utilizando a coloração histológica pelo tricromo de Gomori**

Avaliou-se, no tecido conjuntivo sub-epitelial, as alterações ocorridas com as fibras colágenas, sua reorganização e sua densidade

em relação ao colágeno adjacente.

A avaliação da reorganização das fibras colágenas nos campos microscópicos foi sistematizada de acordo com os códigos indicados na Quadro 3.

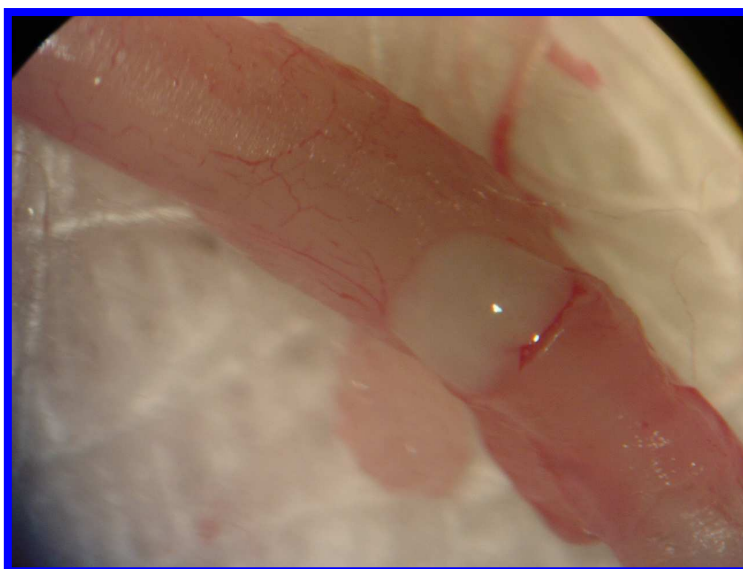
**QUADRO 5 – CRITÉRIOS PARA A AVALIAÇÃO DA REORGANIZAÇÃO DAS FIBRAS DE COLÁGENO EM VASOVASOSTOMIAS DE RATOS *WISTAR***

CÓDIGO	DESCRIÇÃO
1	colágeno rompido e desnaturado
2	colágeno reorganizado e denso
3	colágeno reorganizado com densidade igual ao tecido adjacente

### 3.2.6.3 Avaliação da permeabilidade

A permeabilidade da anastomose foi avaliada imediatamente após a retirada da área da anastomose de três maneiras:

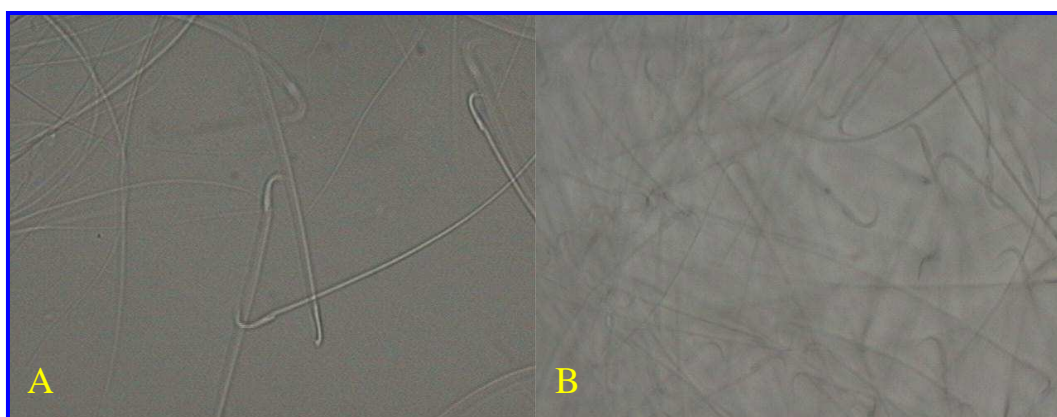
- i. Secção transversal do ducto deferente distal à anastomose e observação através de microscópio cirúrgico da saída de fluído durante compressão manual (ordenha) proximal à anastomose (Figura 10).



**FIGURA 10 – SAÍDA DE ESPERMA NO COTO DISTAL À VASOVASOSTOMIA**

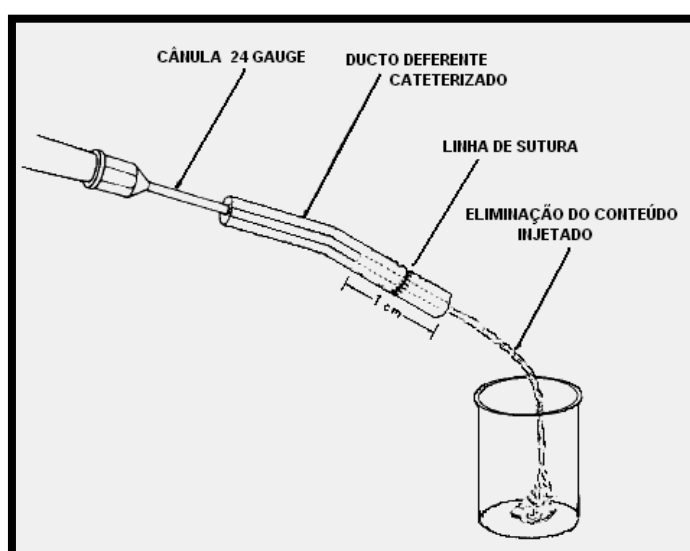


- ii. Exame microscópico com 40 X 3,3 aumentos do fluído recolhido com lamínula do coto distal do deferente para avaliar a presença de espermatozóides, misturando-se 2 a 3 gotas de soro fisiológico a 0,9% (Figura 11).



**FIGURA 11** – ESPERMATOZÓIDES DA SECREÇÃO OBTIDA DO COTO DISTAL A VASOVASOSTOMIA. A com salina e B *in natura*. Aumento de 40 X 3,3 vezes.

- iii. Cateterização da porção proximal da área da anastomose com cânula de 24 gauge e injeção por gravidade (altura de 70 cm) de azul de metileno diluído com salina a 50% (Figura 12).



**FIGURA 12** – MECANISMO PARA AVALIAÇÃO DA PERMEABILIDADE PELO FLUXO ATRAVÉS DA ANASTOMOSE DO DEFERENTE. (Retirado de CAREY *et al.*, 1988)



Para se considerar uma anastomose como permeável à passagem dos espermatozóides, pelo menos dois critérios devem ser identificados.

#### 3.2.6.4 Tempo operatório

Para efeito de marcação do tempo operatório, medido através de cronômetro, levou-se em consideração o tempo necessário para a anestesia, depilação, preparo do campo operatório e abertura com exposição do deferente, confecção do procedimento específico do grupo e fechamento das incisões cutâneas.

Na determinação do tempo para a anastomose, determinou-se apenas o tempo desde a secção do ducto deferente e preparo dos cotos, até o término da anastomose, contado em minutos. A medida foi feita por uma terceira pessoa, não envolvida nesta pesquisa e anotada sem o conhecimento do pesquisador, para conferência no momento do manuseio dos resultados.

#### 3.2.7 Análise Estatística

Na análise estatística da taxa de paternidade, número de granulomas presentes nos grupos, taxa de permeabilidade efetuou-se o teste da diferença entre duas proporções, levando-se em conta a presença ou ausência de prenhes em cada um dos grupos, presença ou ausência de granuloma, permeável ou não, respectivamente, com um nível de significância de 99% ( $p = 0,01$ ).

Na análise estatística da correspondência entre a presença de granuloma com a taxa de permeabilidade e na avaliação do infiltrado

neutrofílico, utilizou-se o teste exato de Fisher.

Na análise da reepitelização e da reorganização do colágeno, utilizou-se o teste de  $\chi^2$  com a correção de continuidade de Yates, pois a amostra situa-se entre 20 e 40 indivíduos e em algumas caselas os resultados foram inferiores a 5. Para tanto, na avaliação das fibras de colágeno não se utilizou os resultados do código 3 (colágeno com densidade igual ao tecido adjacente), uma vez que obteve-se apenas um indivíduo em cada grupo. Fixou-se em 0,01 o nível de rejeição da hipótese de nulidade.

Para a avaliação dos tempos operatório e de anastomose, calculou-se o desvio padrão e o erro padrão, seguindo-se de análise estatística pelo ANOVA com nível de significância de 1%.

## **RESULTADOS**

---

## 4 RESULTADOS

### 5.1 ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

Dos dez animais que apresentaram complicações, observou-se que em nove deles houve infecção da ferida operatória, determinada pela inspeção direta da linha de sutura, sendo dois do grupo I(10%), quatro do II(20%) e três do III(15%). Um deste último grupo, apresentou além da infecção da ferida operatória, atrofia testicular no lado da vasovasostomia. A suspeita macroscópica de atrofia foi confirmada pelo estudo histológico. Um dos ratos do grupo I apresentou deiscência da sutura da pele, sem infecção, este rato obteve prenhez nas duas fêmeas (rato GI-4).

Os apêndices de 1 a 5 descrevem os animais estudados e suas características.

### 5.2 TAXA DE PATERNIDADE

Algumas fêmeas ficaram prenhas antes de completar as duas semanas e outras foram retiradas no décimo quarto dia e se confirmou a prenhez após. A TABELA 6 mostra os resultados obtidos. Não houve diferença estatística entre o grupo I e II ( $Z=1,135$  para  $p=0,01$ ) e entre os grupos I e III ( $Z=1,460$  para  $p=0,01$ ).

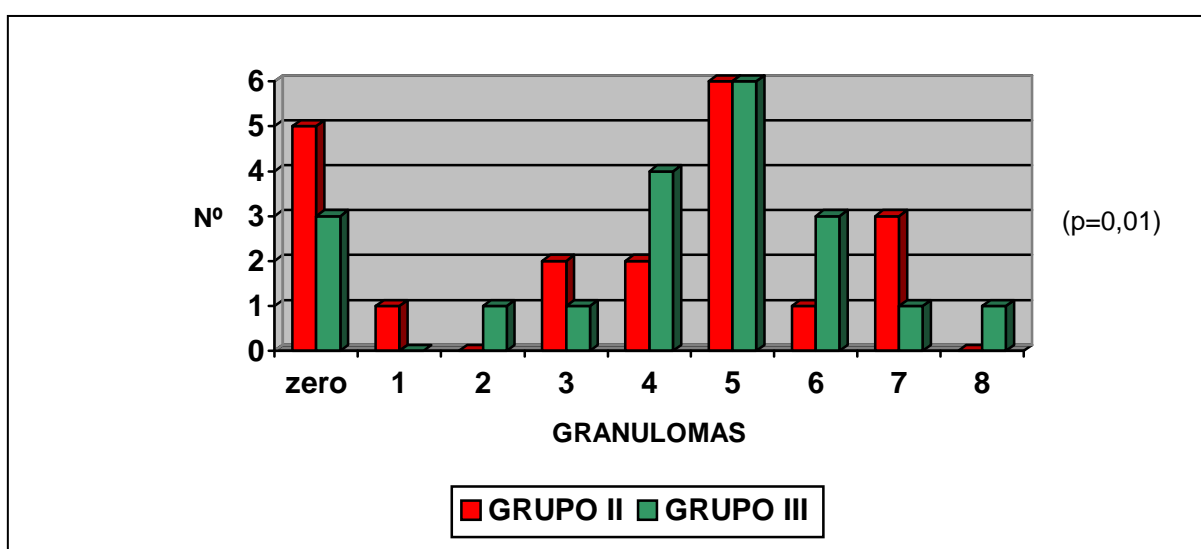
**Tabela 3** - Número de ratos que obtiveram prenhez após 6 semanas nos grupos controle (Grupo I), vasovasostomia com sutura convencional (Grupo II) e com adesivo de fibrina (grupo III).

FÊMEAS	Grupo I (%)	Grupo II (%)	Grupo III (%)
Sem prenhes	03 (15%)	05 (20%)	06 (30%)
Com prenhes	17 (85%)	14 (80%)	13 (70%)
Nº total de ratos	20	20	20

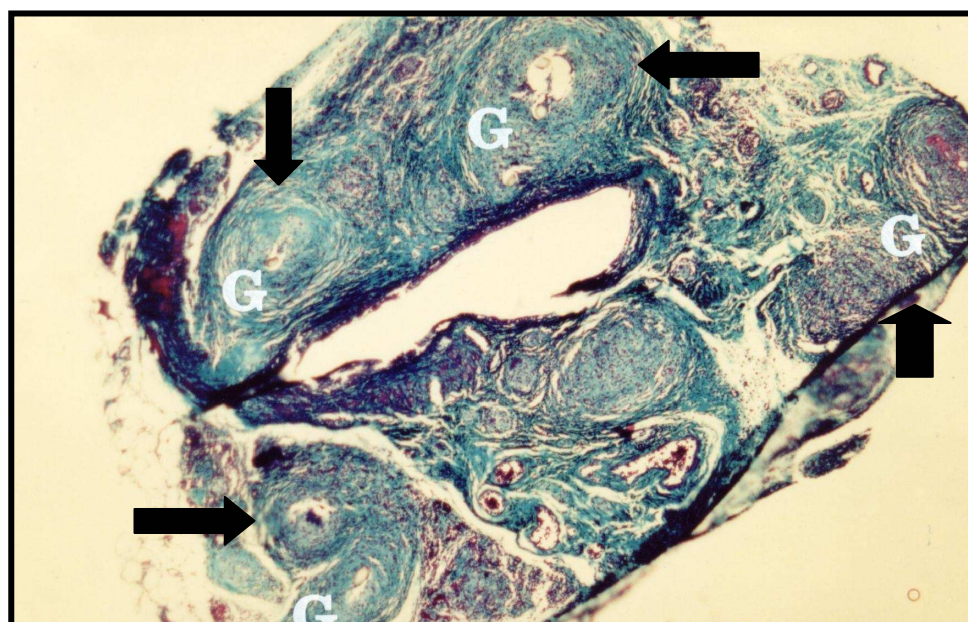
### 5.3 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

Na avaliação da presença e do número de granulomas na região da vasovasostomia foram avaliados apenas os ratos dos grupos II e III. A quantidade total de granuloma, tanto macro quanto microscópicos, encontrada em cada rato foi maior no grupo com vasovasostomia com adesivo de fibrina (Gráfico 1).

**Gráfico 1** – Comparação do número de granulomas na região da anastomose com sutura convencional (grupo II) e com adesivo de fibrina (grupo III).



No grupo II quinze ratos (75%) apresentaram de 1 a 7 granulomas, com uma média de 3,6 granulomas/rato (Figura 13). No grupo III 17 ratos (85%) apresentaram de 2 a 8 granulomas com média de 4,2 granulomas/rato, com significância estatística entre os dois grupos ( $Z=6,25$  para  $p=0,01$ ).



**Figura 13** – Coto do ducto deferente em vasovasostomia com adesivo de fibrina. Presença de vários granulomas (setas) periféricos, com presença de corpo estranho (fio de ancoragem) e reação inflamatória periférica. As fibras de colágeno aparecem em verde. Coloração: Tricromo de Gomori. Aumento de 16x.

Em nove ratos ocorreu formação de granuloma macroscópico na área da anastomose, contendo no seu interior espermatozóides, caracterizando granuloma espermático, sendo seis ratos (30%) do grupo da vasovasostomia com cola de fibrina e três (15%) com sutura convencional. No entanto, com uma dissecação cuidadosa, puderam ser separados sem prejuízo ao estudo histológico e de permeabilidade posterior.

**Tabela 4** – Comparação entre o número de granulomas na região da anastomose e a ocorrência de paternidade nos grupos II e III.

ALTERNATIVA	PATERNIDADE	SEM PATERNIDADE	TOTAL
Granuloma	21	11	32
Sem granuloma	06	02	08
<b>TOTAL</b>	<b>27</b>	<b>13</b>	<b>40</b>

(p=0,01)

A presença de granuloma na região da anastomose não parece se correlacionar com a taxa de paternidade encontrada. Assim, a

ocorrência de granulomas na área da anastomose parece não interferir com a possibilidade de paternidade nos ratos estudados ( $\chi^2 = 0,256$  para  $p=0,01$ ).

**Tabela 5** – Comparação entre o número de granulomas na região da anastomose e a permeabilidade da anastomose nos grupos II e III.

ALTERNATIVA	PERMEÁVEL	NÃO PERMEÁVEL	TOTAL
Granuloma	26	06	32
Sem granuloma	08	00	08
<b>TOTAL</b>	<b>34</b>	<b>06</b>	<b>40</b>

( $p>0,05$ )

Na análise entre a presença dos granulomas e sua possível influência na permeabilidade da anastomose, houve associação entre a ocorrência de granuloma e a permeabilidade, no sentido de que a ocorrência de granuloma aumentou a permeabilidade ( $p=0,236$  ou seja, probabilidade de erro de 23,6%).

**Tabela 6** – Avaliação do exsudato neutrofílico nas bordas da anastomose após 45 dias entre os grupos com sutura convencional (II) e com adesivo de fibrina (III).

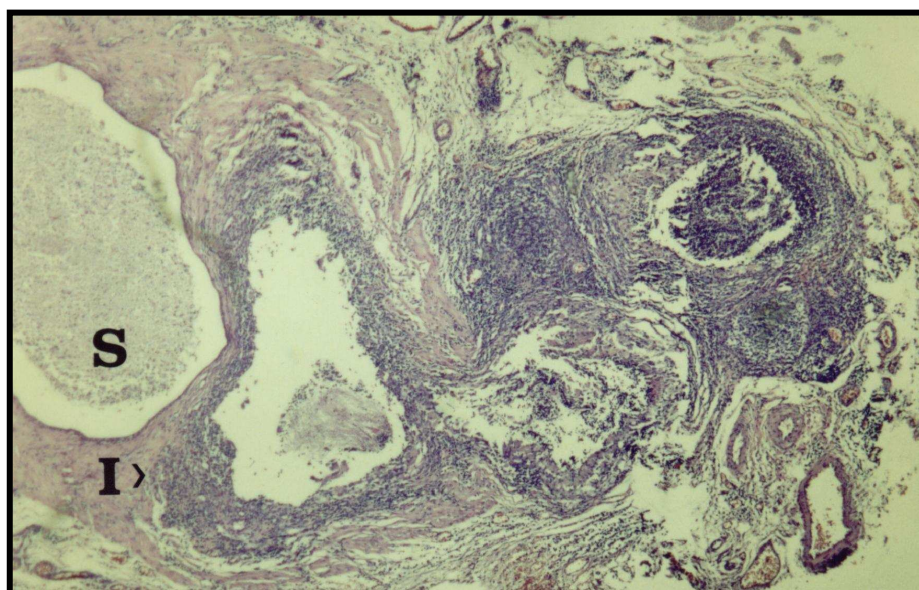
INFILTRADO NEUTRIFÍLICO	Grupo II	Grupo III	Estatística
Acentuado	2	3	$p=0,5$
Moderado	18	17	$p=0,5$
Ausente	0	0	
<b>Total de ratos</b>	<b>20</b>	<b>20</b>	

A avaliação da presença de infiltrado neutrofílico nas bordas da anastomose, correspondendo ao processo inflamatório, pode ser vista na Tabela 7. Não ocorre diferença estatística entre a ocorrência de infiltrado neutrofílico acentuado e moderado entre os grupos II e III.

A comparação estatística entre a vasovasostomia com sutura convencional (grupos II) e com adesivo selante de fibrina (grupo III) não mostrou significância para  $p > 0,05$ .

Um intenso infiltrado neutrofílico, quando presente, não alterou significativamente a permeabilidade da anastomose. Ou seja, mesmo

na presença de acentuado ou moderado exsudato, a luz do ducto deferente permaneceu permeável e com secreção no seu interior, sugerindo que a reação inflamatória neutrofílica não é fator obstrutivo na luz do ducto re-anastomosado.



**Figura 14** – Ducto deferente de rato submetido a vasovasostomia com adesivo de fibrina. Observa-se presença de luz íntegra com secreção (S) em seu interior e reação inflamatória com destruição tecidual, atingindo a camada muscular lisa (I>). Coloração com Hematoxilina-Eosina. Aumento de 16x.

A análise do processo de reepitelização na luz dos ductos deferentes nos grupos II e III levando-se em consideração os critérios adotados, está demonstrada na Tabela 7. Com a aplicação da análise estatística, não se observou significância na correlação dos níveis de reepitelização ( $\chi^2=0,682$  para um erro de  $p=0,711$ ).

**Tabela 7** – Avaliação da reepitelização da luz de ductos deferentes 45 dias após vasovasostomia por sutura convencional (grupo II) e com adesivo de fibrina (grupo III).

RE-EPITELIZAÇÃO	Grupo II	Grupo III	Estatística
Ausente	12	10	$p>0,05$
Epitélio delgado	5	5	$p>0,05$
Semelhante original	3	5	$p>0,05$
$p=0,711$			



A reorganização das fibras de colágeno esta demonstrada no tabela 8. A análise estatística nesta característica não mostrou significância estatística para um erro aceitável ( $\chi^2=0,136$  com erro de  $p=0,713$ ).

**Tabela 8** – Avaliação da reorganização das fibras de colágeno 45 dias após vasovasostomia por sutura convencional (grupo ii) e com adesivo de fibrina (GRUPO III).

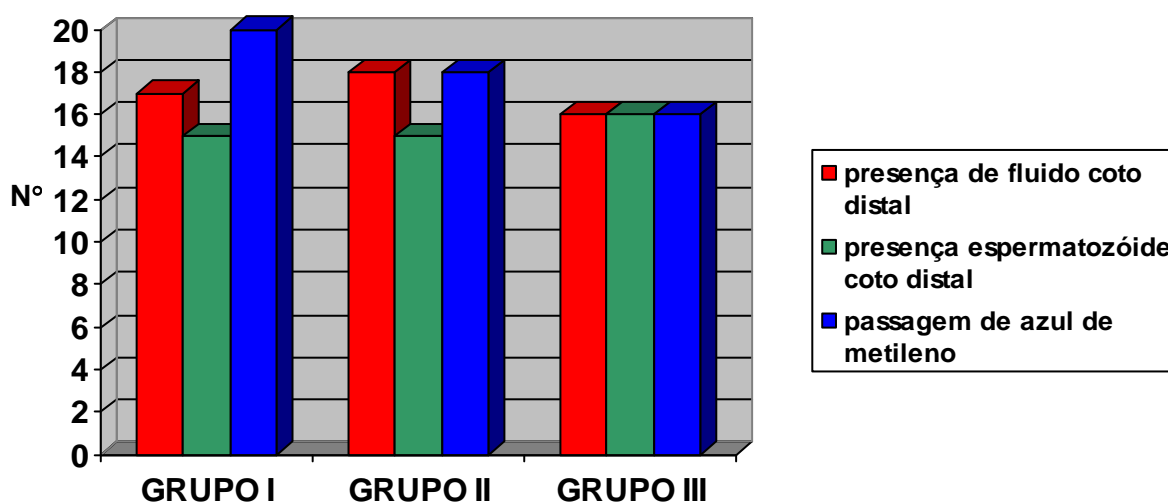
CÓDIGO	Grupo II	Grupo III	Estatística
Colágeno rompido e desnaturado	15	13	$p>0,05$
Colágeno reorganizado e denso	4	6	$p>0,05$
Colágeno reorganizado com densidade igual tecido adjacente	1	1	

( $p=0,713$ )

#### 5.4 PERMEABILIDADE DA ANASTOMOSE

A avaliação da presença de fluido no coto distal do ducto deferente, feita no momento da retirada da anastomose, para estudo sob visão com microscópio cirúrgico, mostrou fluido em 51 ratos. Destes, 17 (85%) foram do grupo controle, 18 (90%) da vasovasotomia por sutura convencional e 16(80%) por adesivo selante de fibrina.

**Gráfico 2** – Avaliação da permeabilidade da vasovasoanastomose com relação aos parâmetros avaliados



Foi possível observar espermatozóides no coto distal do deferente de 46 ratos (Tabela 11) e demonstrou-se a passagem de corante em 54 ratos. Em um rato do grupo I houve a passagem do corante, mas não foi possível demonstrar espermatozóides ou fluído no coto distal, não sendo considerado como permeável, de acordo com o critério adotado neste estudo.

Na avaliação final da permeabilidade da anastomose obteve-se confirmação positiva em 19, 15 e 16 ratos dos grupos I, II e III, respectivamente. Estatisticamente, não é possível demonstrar diferença entre os grupo II e III ( $Z=2,868$  para  $p=0,01$ ).

**Tabela 9** – Avaliação da permeabilidade da anastomose após vasovasostomia com sutura convencional (grupo II) e com adesivo de fibrina (grupo III).

CRITÉRIOS		Grupo I	Grupo II	Grupo III	Estatística
Fluído do ducto distal	(i)	17	18	16	
Presença de espermatozóides	(ii)	15	15(75%)	16(80%)	
Azul de metileno	(iii)	20	18	16	
TOTAL (i) + (ii) + (iii)		19(95%)	15(75%)	16(80%)	$p < 0,01$

## 5.5 TEMPO OPERATÓRIO

O tempo operatório mostra diferença significativa estatisticamente, sendo menor o tempo gasto para realizar a anastomose utilizando cola de fibrina quando comparada a sutura convencional (Tabela 10).

**Tabela 10** – Avaliação do tempo operatório e de anastomose em vasovasostomias com sutura convencional (Grupo II) e com adesivo de fibrina (Grupo III).

CARACTERÍSTICA	Grupo II	Grupo III	Estatística
TEMPO OPERATÓRIO			
médio (minutos)	41,7	28,55	$F=21,76$
erro padrão (EP)	$\pm 2,49$	$\pm 1,14$	$p=0,0001$
desvio padrão (DP)	11,45	5,25	
TEMPO DE ANASTOMOSE			
médio (minutos)	24,6	9,35	$F=57,26$
erro padrão (EP)	$\pm 1,8$	$\pm 0,78$	$p=0,0001$
desvio padrão (DP)	8,26	3,60	

## DISCUSSÃO

---

## 6 DISCUSSÃO

O livre arbítrio é a principal característica da raça humana. O ser humano, frente a um problema, é capaz de decidir qual a melhor opção. O ser humano se adapta ao meio em que vive, de modo a garantir a continuidade da espécie, contando com sua inteligência e sua capacidade de raciocinar. Ele perpetua-se não só porque é mais forte ou em maior número, mas porque tem meios tecnológicos que representam séculos de desenvolvimento científico e intelectual. Trata-se, portanto, de uma espécie lutando pela sobrevivência no seu habitat.

Toda a tecnologia ao alcance da humanidade pode e deve ser usada naquelas circunstâncias onde um casal não pode gerar uma nova vida de maneira natural, como nos casos de infertilidade. Essa mesma tecnologia justifica-se ainda mais quando a infertilidade tem como causa a própria interferência prévia do homem.

O ritmo da vida moderna, aliado a competição mercadológica, são os principais responsáveis pela diminuição na média de filhos por família, observada nas últimas décadas. Apesar da taxa de natalidade ainda ser mais alta em classes mais pobres e menos instruídas, a partir da década de 80 ocorreu um declínio dos nascimentos também nos grupos sociais de baixa renda (IBGE – Senso 2000, 2003).

Não foi feita a biópsia testicular de rotina, para assegurar a viabilidade seminífera, pois a maioria dos autores considera que a espermatogênese não é alterada significativamente pela obstrução ductal (BAGSHAW; MASTERS; PRYOR, 1980; JAROW; *et al.*, 1985; INABA; FUJISAWA; OKADA, 1998; SCHROEDER-PRINTZEN; WEIDNER, 2003). Mas o principal motivo é que a reversão sendo feita no mesmo tempo da vasectomia, não deixa tempo para uma eventual lesão seminífera. Inaba *et al.* (1998) demonstraram que ocorre um aumento de degenerações apoptóticas no tecido germinativo quando a obstrução do deferente ocorre antes da puberdade, mas não após a puberdade, justificando piores resultados em ratos pré-púberes. Não fazer biópsias sistemáticas de testículos e avaliar após um período de

seis semanas é um dos motivos pelos quais utiliza-se ratos adultos.

Além disso, ao se avaliar a reversão pouco tempo após a vasectomia, eventuais fatores epididimários decorrentes da obstrução, como a expressão gênica regulada por um sistema renina-angiotensina local (SAEZ, 2004), não atuariam e, portanto não precisam ser levados em consideração.

As anastomoses convencionais que utilizam microscopia, apresentam altas taxas de sucesso, com taxas de permeabilidade ao redor de 90% e fertilidade entre 40 e 80% (SILVERSTEIN; MELLINGER, 1991). A busca atual é por um procedimento de mais simples execução e, conseqüentemente, mais rápido.

A procura por uma técnica de mais fácil execução têm sido muito enfatizada na literatura internacional. Crain *et al.* (2004) demonstraram que 59% dos urologistas nos Estados Unidos realizam regularmente vasovasostomia. Quando comparou vasovasostomias feitas por especialista em infertilidade, urologista acadêmico (ligado a serviço universitário) e urologista generalista, o microscópio cirúrgico foi usado em 93%, 65% e 56% dos procedimentos, respectivamente. Além disso, o fio de sutura mais fino é usado pelo especialista em infertilidade. Isso demonstra a maior dificuldade por quem mais realiza esse tipo de procedimento que é o urologista generalista, quanto ao domínio das técnicas de microcirurgia.

Pode permanecer alguma dúvida quanto à realização da vasovasoanastomose ou de técnicas de manipulação de gametas *in vitro*, como a injeção intra-citoplasmática de espermatozóide (ICSI). Mas a análise de ambas mostra que a vasovasostomia tem maior taxa de gravidez (52% versus 22,5%) (HEIDENREICH; ALTMANN; ENGELMANN, 2000). Além do mais, o sucesso da vasovasostomia devolve a fertilidade em definitivo, enquanto a ICSI deverá ser sempre tentada a cada gravidez.

## 6.1 ADESIVO DE FIBRINA

As substâncias com propriedade de aderência de tecidos orgânicos têm sido referidas na literatura mundial de formas diversas. Termos como adesivo cirúrgico (*surgical adhesive*), adesivo (*adhesive*), adesivo tecidual (*tissue adhesive*), cola (*glue*) e, mais comumente, vedante (*sealant*). Segundo Fagundes e colaboradores, a palavra selante não existe na língua portuguesa, sendo utilizada numa tradução errônea (FAGUNDES; TAHA; RIVOIRE, 2002).

O adesivo de fibrina representa a última etapa da cascata da coagulação, onde ocorre a ativação do fibrinogênio pela trombina, levando à formação de um coágulo semi-rígido de fibrina (Figura 1). Até o momento nenhum outro material adesivo, sintético ou biológico, foi usado com tanto sucesso em termos de compatibilidade, benefícios clínicos e sem toxicidade (RADOSEVICH; GOUBRAN; BURNOUF, 1997; FAGUNDES; TAHA; RIVOIRE, 2002).

Os adesivos sintéticos (derivados do cianoacrilato ou compostos gelatina-resorcinol-formaldeído) apresentam desvantagens e, por isso, não foram utilizados neste experimento. Não são biocompatíveis ou biodegradáveis, induzem a um processo inflamatório de maneira mais intensa que os adesivos biológicos, trazem reação tipo corpo estranho, necrose tecidual e extensa fibrose (RADOSEVICH; GOUBRAN; BURNOUF, 1997). Essas características não foram observadas com os adesivos biológicos (MORANDINI; ORTIZ, 1992).

Mas com todos esses benefícios, ainda podem ficar algumas questões como, por exemplo, o risco de transmissão de algumas doenças virais por elementos do plasma. O uso de trombina bovina ou manipulada a partir da batroxobina, outra protease coagulante fibrinogênica derivada do veneno da serpente *Bothrops atrox moogendi*, trazem consigo um maior risco de reações imunológicas (MARTINOWITZ; SCHULMAN, 1995).

Todos os produtos medicinais derivados de plasma apresentam um risco teórico de transmissão de patógenos. As viroses mais freqüentes no plasma humano nestes casos incluem: vírus da hepatite B (HBV), vírus da hepatite C (HCV), HIV-1 e HIV-2, vírus da hepatite A (HAV) e parvovírus humano B19 (B19V). Outras viroses como herpes simples (HSV-1), citomegalovírus (CMV) e vírus de Epstein-Barr (EBV) raramente ocorrem no plasma. Os métodos de inativação viral em uso são detergentes solventes, aquecimento em vapor, e pasteurização, outros processos em desenvolvimento como calor seco, nanofiltração e irradiação UVC estão em estudos (SHEKARRIZ; STOLLER, 2002). Estes métodos apresentam, em estudos *in vitro*, evidências suficientes de segurança contra as principais viroses plasmáticas, HIV e hepatites

B e C (RADOSEVICH; GOUBRAN; BURNOUF, 1997).

Entretanto, estas técnicas não inativam vírus como parvovírus B19 e o vírus da hepatite A. Mais é importante salientar que não há registro na literatura de transmissão viral a partir de produtos comerciais de adesivo de fibrina, mesmo quando usados para cobrir grandes áreas cruentas (RADOSEVICH; GOUBRAN; BURNOUF, 1997). Sob este aspecto, sua utilização na vasovasostomia é segura, tanto por não haver transmissão demonstrada, quanto pela pequena quantidade utilizada, menos de 3 gotas em cada deferente.

Existe uma diferença entre o efeito vedante e o adesivo nas colas biológicas. A ação adesiva ou tênsil é dependente da concentração de fibrinogênio, enquanto a propriedade vedante decorre da ação da trombina que afeta a rapidez da hemostasia e, portanto, aumenta o efeito selante (GIBBLE; NESS, 1990). Eventualmente uma pequena quantidade de adesivo que poderia entrar na luz do ducto deferente, parece não influenciar a longo prazo as taxas de permeabilidade, uma vez que sofrem fibrinólise e degradação (SILVERSTEIN; MELLINGER, 1991).

Uma outra discussão a respeito do produto é seu custo na vasovasostomia. Apesar de não ser o objetivo deste estudo, pode-se argumentar que a redução do tempo operatório, trazendo consigo a redução dos custos de centro cirúrgico, medicações, fios cirúrgicos e de anestesia, acabam por tornar mais barato o método aqui proposto.

## 6.2 VASOVASOSTOMIA

Ainda não existe uniformidade quanto a melhor técnica de vasovasostomia (FLAM *et al.*, 1989; DURÁN; ROCA, 1990). A controvérsia inicia-se quanto ao uso de sutura um ou em dois planos (FISCHER; GRANTMYRE, 2000). Os defensores da anastomose em dois planos, argumentam que ocorre uma aproximação mucosa mais precisa, com menor risco de extravasamento de esperma (SILBER,



1984; FOX, 1994; GOLDSTEIN; LI; MATTHEWS, 1998). Seus opositores, que defendem a anastomose em um único plano, referem que dois planos aumentam sobremaneira o tempo operatório, exigindo um treinamento em microcirurgia mais complexo e aumentando a quantidade de granulomas de sutura na área da anastomose (SHARLIP, 1981; LEE, 1986; BELKER; THOMAS; FUCHS *et al.*, 1991; FUSE; KIMURA; KATAYAMA, 1995; FISCHER; GRANTMYRE, 2000).

A análise de ambas as possibilidades pela literatura mostra resultados semelhantes (TABELA 1; TABELA 2) em se tratando de taxa de paternidade e permeabilidade (SHARLIP, 1981; SILBER, 1984; LEE, 1986; BELKER *et al.*, 1991; FOX, 1994; FUSE; KIMURA; KATAYAMA, 1995; GOLDSTEIN; LI; MATTHEWS, 1998; FISCHER; GRANTMYRE, 2000). Sendo assim, a diferença fundamental passa a ser o tempo operatório e, conseqüentemente a duração do ato anestesiológico, o treinamento requerido e baixo custo (SCHROEDER-PRINTZEN; WEIDNER, 2003). Comparando-se ambos os procedimentos, se optaria por àquele mais rápido e simples de ser executado (CHAN; LI; GOLDSTEIN, 2003). Este é um ponto semelhante à análise que se faz quando da comparação da sutura convencional em um plano com o adesivo de fibrina, como foi feito neste trabalho.

Assim sendo, as alternativas técnicas que estão sendo propostas para reduzir o tempo operatório devem ser comparadas à sutura em plano único. (SCHROEDER-PRINTZEN; WEIDNER, 2003). Dentre estas alternativas destacam-se técnicas com *clips* (GASKILL *et al.*, 1992; KOBAYASHI *et al.*, 2001), laser de CO<sub>2</sub> (BALL *et al.*, 1993) e Nd-YAG (ALEFELDER *et al.*, 1991; BALL *et al.*, 1993; SEAMAN *et al.*, 1997) e adesivo de colágeno (MORANDINI *et al.*, 1993).

De modo semelhante, utilizou-se fio de sutura não absorvível (nylon) em detrimento ao absorvível, pois o índice de obstrução tardia é maior quando se utiliza fio absorvível, ainda que a etiologia não esteja clara (SHEYNKIN *et al.*, 1999).

Por esses motivos comparou-se a anastomose com adesivo de fibrina com a técnica em plano único, onde se faz o alinhamento mucoso. Mas discute-se a real necessidade de alguns pontos antes da

aplicação da fibrina para manter alinhados os cotos. Em um estudo que aborda esta questão VANKEMMEL *et al.* (1998) demonstram que é necessário 3 pontos de ancoragem, transmurais, para melhorar o resultado da vasovasostomia. Com base nesta experiência prévia optou-se, neste experimento, pelo uso de 3 pontos com ângulos de 120°, conforme descrito no método.

### 6.3 TAXA DE PATERNIDADE

Na avaliação da fertilidade após vasovasostomia, outros fatores, além da passagem de espermatozóides, podem ter significância, tanto fatores do próprio indivíduo quanto àqueles relacionados à fêmea (FLICKINGER *et al.*, 1991). Além do mais, a análise exclusiva da presença de espermatozóides no ejaculado ou na secreção do coto distal à anastomose, pode representar àqueles 10% de pacientes com espermatozóides no esperma após serem vasectomizados (LEMAK; GOLDSTEIN, 1996). A verificação de prenhes da fêmea pode também ser usado como comprovação inequívoca. Mas é preciso lembrar que podem não ser identificados os casos onde ocorre abortamento espontâneo, caracterizando falso-negativo.

Por esses motivos e baseados em resultados de outros autores, optou-se em usar a taxa de paternidade para o estudo, mantendo-se cada rato macho com duas fêmeas em gaiola por um período de até 14 dias (FLICKINGER *et al.*, 1991).

As taxas de fertilidade relatadas, têm sido ao redor de 70% para vasovasostomias com cola de fibrina ou laser e 80% no grupo controle (KÜÇÜKAYDIN *et al.*, 1995). O mesmo autor relata, em estudos diferentes, com apenas um ano de diferença, taxas de fertilidade com adesivo de fibrina de 30% até 80% (VANKEMMEL *et al.*, 1997; VANKEMMEL *et al.*, 1998).

No presente experimento, obteve-se taxa de fertilidade de 70% com sutura convencional e 65% com adesivo de fibrina.

Uma correlação exata entre as taxas de fertilidade relatadas na literatura é difícil de se fazer, uma vez que existe grande variabilidade nas técnicas e avaliações.

#### 6.4 FORMAÇÃO DE GRANULOMA

O granuloma espermático é uma estrutura em forma de bolsa, contendo no seu interior espermatozóides em vários estágios de desintegração e é tido como a principal causa da formação de anticorpos anti-espermatozóides após vasectomias (ALEXANDER, 1972; TUNG, 1978; CHATTERJEE *et al.*, 2001). A histologia destes granulomas em ratos, mostra uma estrutura complexa, contendo macrófagos e neutrófilos com espermatozóides fagocitados ocupando a parte externa do centro próximo à camada de células epitelióides vacuolizadas, contendo restos celulares (FLICKINGER *et al.*, 1986).

É preciso diferenciar dois tipos de granulomas. O granuloma de espermatozóide, formado a partir do extravasamento destes pelo coto do deferente ou pela anastomose, e o granuloma de corpo estranho, formado pelo fio cirúrgico. Este último se refere ao processo inflamatório de corpo estranho que pode comprometer a luz do ducto deferente com fibrose e obstrução e é encontrado em 45% das vasovasostomias (FISCHER; GRANTMYRE, 2000).

A presença de granuloma no local da vasovasostomia ainda não parece ter um significado conclusivo (CHATTERJEE *et al.* 2001; BELKER; WITT, 2002). Silber (1977b; 1977c) identificou granuloma espermático em 20 a 35% dos ductos submetidos a vasovasostomia. Ele acredita que a presença destes granulomas seja benéfica para a qualidade do esperma, pois reduziria a pressão e a dilatação canalicular no testículo. Na ausência do granuloma de espermatozóide, uma pressão intra-tubular muito alta, com estase pode ocorrer. Estes resultados são semelhantes aos aqui encontrados, onde em 30% dos ratos com anastomose com adesivo e 15% com sutura convencional

apresentaram granuloma espermático macroscópico. BOORJIAN *et al.* (2004) também acreditam no impacto favorável dos granulomas sobre a permeabilidade da anastomose.

Evidências de que o granuloma pode funcionar como uma válvula de pressão aparecem no trabalho de Flickinger *et al.* (1991) onde os testículos de ratos sem granulomas foram menores do que àqueles dos ratos que apresentavam granuloma.

Talvez a teoria do granuloma espermático como válvula de pressão do sistema canicular intra-testicular não se justifique. VANKEMMEL *et al.* (1998) comparam vasovasostomias usando adesivo humano com dois e três pontos de sutura prévia para o correto alinhamento da luz ductal. Com dois pontos houve mais granulomas (80%) e menor fertilidade (30%).

Resultado diferente ao aqui encontrado é descrito por SILVERSTEIN e MELLINGER (1991) com granuloma presente em 28% utilizando cola de fibrina. Mas obtiveram um número maior (61%) com sutura convencional. No presente experimento não se obteve diferença estatística entre o número de granulomas entre os dois grupos.

Os granulomas são observados em 65,5% das vasovasostomias em ratos (CAREY; HOWARDS; FLICKINGER *et al.*, 1988). Estes dados de um dos poucos artigos na literatura elaborado exclusivamente para analisar os efeitos do granuloma no sítio da vasovasostomia são semelhantes aos 75% encontrados neste trabalho no grupo com microsutura convencional. Quando do uso de adesivo de fibrina obteve-se 85% de granulomas. Nestes casos leva-se em consideração todos os granulomas, macro e microscópicos.

A explicação mais plausível para uma maior quantidade de granulomas com o uso do adesivo de fibrina é a quantidade de adesivo utilizada. Sugere-se um novo experimento para titulação da dose, pois possivelmente uma quantidade menor de gotas poderia ter o mesmo sucesso, mas com menos reação granulomatosa.

Alguns autores têm ressaltado a importância de uma anastomose impermeável, impedindo o extravasamento de esperma, já que estes granulomas poderiam causar estreitamentos e obstrução (HAGAN;

COFFEY, 1977; SILBER, 1977c; HOWARDS, 1980; SROUGI *et al.*, 1981; COS *et al.*, 1983; VANKELMMER *et al.*, 1998)). O uso do adesivo garante uma anastomose impermeável, uma vez que a cola entra em contato com toda a circunferência do ducto deferente e não apenas em 4 ou 6 pontos como na sutura convencional.

Mas se discute se a presença e o número de granulomas no local da anastomose pode levar a uma obstrução da luz do ducto deferente, levando, conseqüentemente, a piores resultados (CAREY *et al.*, 1988; KÜÇÜKAYDIN *et al.*, 1995). Alguns trabalhos que mostram essa relação inversa entre o número de granulomas e as taxas de permeabilidade apresentam viesses como o uso de modelador intra-luminal (DURÁN; ROCA, 1990; NIEDERBERGER *et al.*, 1993).

Atualmente, a maioria dos estudos demonstra que a permeabilidade da anastomose não depende da presença de granulomas (FLICKINGER, *et al.*, 1986; CAREY, *et al.*, 1988), estes dados são semelhantes aos encontrados neste experimento, uma vez que não se encontrou relação entre a presença de granulomas ou do número deles com obstrução da anastomose, pois a taxa de paternidade foi de 70 e 65% nos grupos com sutura convencional e adesivo vedante, respectivamente.

O significado do granuloma após vasovasostomia em humanos permanece indefinido, e mesmo que teoricamente possa obstruir a anastomose, seu efeito adverso parece ser mesmo por um mecanismo imunológico (KÜÇÜKAYDIN *et al.*, 1995). Os resultados encontrados neste experimento, assim como muitos encontrados na literatura, mostram permeabilidade da anastomose independentemente da presença de granulomas.

## 6.5 HISTOLOGIA DO DUCTO DEFERENTE

O ducto deferente é revestido internamente por um epitélio

pseudo-estratificado, formado principalmente de pequenas células basais hemisféricas e células principais colunares com microvilos (HOFFER, 1976). Existem evidências que apontam as células principais como sintetizadoras e secretoras de glicoproteínas dentro do lúmen ductal de um modo merócrino (secretada por exocitose) (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1995; ANDONIAN; HERMO, 1999). O papel fisiológico exato dos ductos deferentes nos homens ainda não está completamente entendido (ANDONIAN *et al.*, 2002), mas pretende-se que após a reconstrução dos ductos obtenha-se uma avaliação histológica o mais próximo daquela antes da vasectomia.

A própria obstrução gerada com a vasectomia, acarreta modificações significativas, que precisam ser levadas em consideração. Acredita-se que o fator necessário para manter a integridade do epitélio do ducto deferente, seja a presença de fluído seminal luminal, vindo de áreas mais proximais (ANDONIAN *et al.*, 2002). Portanto, naqueles experimentos onde se procede a reanastomose tardia, o conhecimento das modificações pré-existent é necessário. Mas mesmo nas anastomoses no mesmo momento, como neste experimento, deve-se levar em consideração que o ducto deferente proximal (testicular) pode apresentar células principais de altura reduzida. Em contraste, o ducto distal (abdominal) à área da vasectomia, apresenta diminuição da luz, com camadas de células achatadas, sem organelas ou vilosidades, sugerindo que se tornaram indiferenciadas pela falta de fluído luminal (ANDONIAN *et al.*, 2002).

Este experimento mostrou que a maioria dos ductos dos grupos com sutura convencional e com cola de fibrina, apresentaram epitelização ausente ou inicial, 60 e 50% respectivamente. Apesar de não haver diferença estatística, demonstrando inequivocamente, que maiores taxas de prenhes e de permeabilidade se relacionam com ductos mais reepitelizados, ocorre pelo menos uma tendência nesse sentido. É preciso lembrar que a avaliação com 45 dias pode explicar parcialmente os resultados. Seria interessante um novo experimento, que avaliasse a relação entre a reepitelização em vários momentos após a vasectomia, com as taxas de permeabilidade e fertilidade com

um número maior de animais.

Ainda que cerca de 20% da massa original do adesivo de fibrina são desintegrados por fibrinólise nas 72 horas seguintes à aplicação (SILVA, 1998), uma reação inflamatória local pode ser determinada. Essa reação tissular decorre de uma combinação do trauma com as propriedades físicas e químicas do material usado para a síntese (SHEYNKIN *et al.*, 1999).

A determinação do acúmulo de neutrófilos constitui uma das principais características da reação inflamatória aguda (HADDAD FILHO *et al.*, 2004) e por isso foi usada neste experimento. Na medida que o processo inflamatório e de reparação tecidual progride, o número de neutrófilos tende a diminuir, aparecendo outros componentes que irão fazer parte da fase crônica ou reparadora. Mas a manutenção de neutrófilos indica a persistência de um processo inflamatório. No presente estudo, detectou-se um predomínio de reação inflamatória moderada, tanto nas anastomoses com sutura convencional quanto nas com cola de fibrina, 90 e 85%, respectivamente. Resultados semelhantes têm sido descritos na literatura para a avaliação da reação inflamatória em ferida operatória (HADDAD FILHO *et al.*, 2004; NAUGHTON *et al.*, 2004).

Estudos que analisaram a reação neutrofílica decorrente do implante de corpo estranho em ratos, mostraram uma baixa atividade ao redor do 30º dia (KAFEJIAN-HADDAD *et al.*, 1997; HADDAD FILHO *et al.*, 2004). É possível que isso ocorra em função de uma reação inflamatória mais intensa onde a reação crônica ao corpo estranho tende a ser mais proeminente e precoce. Neste caso, tanto o fio de sutura quanto o adesivo de fibrina teriam uma resposta tecidual semelhante em relação ao tempo de aparecimento. Além disso, a quantidade de neutrófilos ao redor de seis semanas pode ainda representar uma resposta ao trauma operatório (SILVERSTEIN; MELLINGER, 1991; KÜÇÜKAYDIN *et al.*, 1995; VANKEMMEL *et al.*, 1997; SHEYNKIN *et al.*, 1999; CAVALLARO; CAVALLARO, 2003).

O processo inflamatório, decorrente tanto da manipulação operatória quanto do material de síntese, não mostrou trazer prejuízo à

permeabilidade da anastomose. Obteve-se, na maioria dos espécimes analisados, um processo inflamatório acentuado, traduzindo-se em dificuldade no reconhecimento de estruturas como vasos sanguíneos, tanto nos deferentes anastomosados com fio de sutura quanto naqueles com cola de fibrina (90 e 85%, respectivamente). Poucos estudos na literatura fazem esta correlação, mas aqueles que a avaliam também não acreditam numa relação causa e efeito (ANDONIAN *et al.*, 2002).

Durante o processo inflamatório que se instaura, o fibroblasto produz colágeno a ser usado como material de reparação tecidual. Assim sendo, espera-se que a quantidade de fibroblastos aumente no início do processo de reparação, diminuindo progressivamente. De maneira oposta, nas fases finais da reparação há uma maior quantidade de fibras de colágeno (HADDAD FILHO *et al.*, 2004).

## 6.6 PERMEABILIDADE DA ANASTOMOSE

A melhor forma de avaliar quantitativamente a permeabilidade da vasovasostomia é pela análise do ejaculado. Porém, esta análise é muito difícil de ser feita em ratos. Assim, a literatura científica aceita como parâmetros confiáveis, a avaliação funcional, dada pela presença de espermatozóides no coto distal à anastomose e a avaliação mecânica, que é a passagem de corante ou de secreção pela anastomose após ordenha proximal (CHAN; LI; GOLDSTEIN, 2003).

Alguns autores têm encontrado discrepância entre as duas avaliações (CLARO *et al.*, 1996; McCALLUM *et al.*, 2002). Seriam casos onde ocorre a passagem do corante ou há saída de secreção no coto distal, mas não se consegue resgatar espermatozóides nesta secreção. Não se sabe ao certo o porquê desta diferença. Uma possível explicação seria a formação do granuloma de esperma no ponto de anastomose (CHAN; LI; GLODSTEIN, 2003) ou as alterações histológicas já descritas.

A avaliação da presença de espermatozóides no coto distal à



anastomose foi de 75% nas anastomoses com sutura convencional e 80% com adesivo de fibrina, resultado semelhante ao descrito na literatura que vai de 80 a 90% (SILVERSTEIN; MELLINGER, 1990; BALL *et al.*, 1993; KÜÇÜKAYDIN *et al.*, 1995; VANKEMMEL *et al.*, 1997; VANKEMMEL *et al.*, 1998).

Utilizou-se o método descrito por CAREY *et al.* (1988) para avaliar a permeabilidade da vasovasostomia (Figura 12). Neste método, se cateteriza a extremidade proximal do segmento onde se encontra a anastomose e se injeta corante e observa-se a saída pelo coto distal. A escolha deste método baseou-se na sua utilização em vários outros experimentos, sendo tido como padrão de avaliação da permeabilidade da vasovasostomia (SILVERSTEIN; MELLINGER, 1991; SEAMAN, *et al.*, 1997; KOBAYASHI, *et al.*, 2001; MCCALLUM *et al.*, 2002). A crítica a este método poderia ser a de que a pressão de injeção pode variar, de modo subjetivo, de pesquisador para pesquisador. Neste sentido, fez-se uma modificação técnica injetando por gravidade a uma altura padronizada de 70 cm.

Numa tentativa de determinar quantitativamente a permeabilidade da vasovasostomia SILVERSTEIN e MELLINGER (1991) mediram a saída de soro fisiológico no coto distal durante um intervalo de dois minutos. Conectaram o cateter 24 gauge a um equipo de soro preso ora a 90 cm, ora a 40 cm de altura, sem uma explicação plausível no texto para essa variação. Optou-se em não reproduzir este modelo descrito, pois os próprios autores reconhecem que muitos espécimes foram rompidos e tiveram que ser desprezados da análise estatística. O que poderia levar a erro de amostragem.

Mas existem muitos artigos que avaliam a permeabilidade somente pela análise microscópica quando não há trombos na luz do deferente e/ou sinais inequívocos de estenose (CAVALLARO; CAVALLARO, 2003). Acreditamos que métodos semelhantes podem trazer taxas de resultados falso-positivos e falso-negativos mais elevados.

Na análise funcional da permeabilidade da anastomose término-terminal em vasovasostomia devemos ter em mente que vários fatores

podem alterar a permeabilidade e não exclusivamente a qualidade da anastomose. A desnervação do ducto deferente durante a vasectomia pode causar parada da propulsão peristáltica do espermatozoide pela anastomose (BELKER; WITT, 2002).

Os resultados do presente experimento, com permeabilidade de 75% para a vasovasostomia com sutura convencional e 80% com adesivo de fibrina, estão de acordo com aqueles descritos na literatura, que situam a permeabilidade de 80 a 90% (RODRIGUES NETTO JÚNIOR *et al.*, 1986; SILVERSTEIN; MELLINGER, 1991; FENSTER; McLOUGHLIN, 1981; OWEN; KAPILA, 1984; SILBER, 1989; FOX, 1994; LEMACK; GOLDSTEIN, 1996; GOLDSTEIN; LI; MATTHEWS, 1998; SCHROEDER-PRINTZEN; DIEMER; WEIDNER, 2003).

Resultados conflitantes quanto às taxas de permeabilidade podem ser explicados pelo período em que se avalia as anastomoses. Os granulomas tendem a diminuir em número após 60 dias e a permeabilidade a aumentar após este período (CAVALLARO; CAVALLARO, 2003).

Mas resultados conflitantes merecem uma análise mais crítica. DURAN e ROCA (1990) descreveram taxas de permeabilidade de 83% para sutura convencional e somente de 17% para um tipo de adesivo. No entanto, estes autores utilizaram moldes dentro da luz do ducto deferente para evitar a entrada do adesivo líquido. Eles pingaram uma gota em cada coto separadamente e após uniram por alguns segundos. Foram utilizadas diversas técnicas neste experimento, unindo primeiro e fixando os cotos com pontos de fixação para só depois pingar o adesivo vedante. Isso justifica a baixa taxa de permeabilidade destes autores, uma vez que é muito difícil manter a luz sem cola.

Na técnica realizada neste experimento, o adesivo, devido sua viscosidade e fazendo-se um bom alinhamento dos cotos, dificilmente adentrará a luz dos ductos. O pouco adesivo que pode entrar na luz ductal não parece influenciar a permeabilidade da anastomose, pois ocorre fibrinólise e degradação (SILVERSTEIN; MELLINGER, 1991).

## 6.7 TEMPO OPERATÓRIO

Os resultados das várias técnicas se equiparam, em termos de permeabilidade e prenhes, mas o que se espera é uma diminuição do tempo operatório. Não há uma definição clara na literatura de como cronometrar o tempo operatório. Alguns autores sequer citam em seus métodos (SILVERSTEIN; MELLINGER, 1991; KÜÇÜKAYDIN *et al.*, 1995; McCALLUM *et al.*, 2002) outros iniciam a cronometragem com a incisão (BALL *et al.*, 1993; FISCHER; GRANTMYRE, 2000) e, por último, há aqueles que o fazem a partir do primeiro ponto na vasovasostomia (SEAMAN *et al.*, 1997; KOBAYASHI *et al.*, 2001). Evidentemente que teremos resultados díspares na literatura.

Apesar destas diferenças, o tempo operatório médio das vasovasostomia com sutura convencional situa-se entre 24 e 96 minutos, enquanto para adesivo de fibrina ou laser reduz-se para 10 e 35 minutos (SILVERSTEIN; MELLINGER, 1991; KÜÇÜKAYDIN *et al.*, 1995; SEAMAN *et al.*, 1997; FISCHER; GRANTMYRE, 2000; KOBAYASHI *et al.*, 2001). Os resultados deste experimento mostram  $24,6 \pm 1,8$  minutos na anastomose convencional e  $9,35 \pm 0,78$  minutos na com adesivo de fibrina, com significância estatística. Estes resultados são comparáveis aos da literatura. Os experimentos com maior duração referem-se ao tempo operatório total. Neste caso, o presente experimento obteve como resultados  $41,7 \pm 2,49$  para sutura convencional e  $28,55 \pm 1,14$  para o adesivo de fibrina, continuando a referendar a literatura especializada.

A técnica com adesivo de fibrina é mais simples, requer menor experiência com microcirurgia e pode tornar a vasovasostomia um procedimento ao alcance do urologista geral (SILVERSTEIN; MELLINGER, 1991).

## CONCLUSÕES

---

## 7 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho, permitem concluir que a vasovasostomia do ducto deferente de ratos com adesivo selante de fibrina apresenta resultados semelhantes à técnica de microcirurgia convencional, porém com redução do tempo operatório. Esta conclusão é corroborada pela demonstração dos seguintes itens:

- I. A taxa de paternidade é semelhante no ratos submetidos à vasovasostomia por sutura convencional (80%) e com adesivo selante de fibrina (70%)( $p=0,01$ );
- II. A permeabilidade do ducto deferente após a vasovasostomia é similar, tanto quando se usa sutura convencional (90%) quanto adesivo selante de fibrina (80%);
- III. A formação de granuloma no local da anastomose é maior com o adesivo de fibrina (85%) do que com sutura convencional (75%)( $p=0,01$ );
- IV. Não foi possível determinar diferenças quanto ao infiltrado neutrofílico, re-epitelização e re-organização das fibras de colágeno entre os dois grupos;
- V. O tempo operatório e de anastomose são menores na anastomose com cola de fibrina ( $p=0,0001$ ).

## **REFERÊNCIAS**

---

## REFERÊNCIAS

ALEFELDER, J.; PHILIPP, J.; ENGELMANN *et al.* Stented laser-welded vasovasostomy in the rat: Comparison of Nd:YAG and CO<sub>2</sub> lasers. **Journal of Reconstructive Microsurgery**, New York, v.7, p.317-320, 1991.

ANDONIAN, S.; HERMO, L. Cell and region specific localization of lysosomal and secretory proteins and endocytic receptors in epithelial cells of the cauda epididymidis and vas deferens of the adult rat. **Journal of Andrology**, Philadelphia, v. 20, p. 415-429, 1999.

ANDONIAN, S.; JARVI, K.; ZINI A.; HERMO L. Ultrastructural features of the vas deferens from patients undergoing vasectomy and vasectomy reversal. **Journal of Andrology**, Philadelphia, v.23, n.5, p.691-701, 2002.

ANGER, J.T; GOLDSTEIN, M. Intravasal "toothpaste" in men with obstructive azoospermia is derived from vassal epithelium, not sperm. **The Journal of Urology**, Baltimore, v. 172, p. 634-636, 2004.

ANIDJAR, M.; DESGRANDCHAMPS, F.; MARTIN, L. *et al.* Laparoscopic fibrin glue ureteral anastomosis: experimental study in the porcine model. **Journal of Endourology**, New York, v.10, p.51, 1996.

BAGSHAW, H.A.; MASTERS, J.R.W.; PRYOR, J.P. Factors influencing the outcome of vasectomy reversal. **British Journal of Urology**, Edinburgh, v. 52, p. 57-60, 1980.

BALL, R.A.; STEINBERG, J.; WILSON, L. A. *et al.* Comparison of vasovasostomy techniques in rats utilizing conventional microsurgical suture, carbon dioxide, and fibrin tissue adhesives. **The Journal of Urology**, Baltimore, v.41, n.5, p.479-483, 1993.

BELKER, A.M.; THOMAS, A.J.; FUCHS, E.F. *et al.* Results of 1,469 microsurgical vasectomy reversals by the vasovasostomy study group. **The Journal of Urology**, Baltimore, v.145, p.505-511, 1991.

BELKER, R.A.; WITT, M. Vasovasostomy, vasoepididymostomy and sperm retrieval techniques – instructional course. AMERICAN UROLOGICAL ASSOCIATION ANNUAL MEETING, Orlando, Florida, 2002.

BERGEL, S. Ueber wirkungen des fibrins. **Deutsche Medizinische Wochenschrift**, Stuttgart, v.35, p.633, 1909.

BOORJIAN, S.; LIPKIN, M.; GOLDSTEIN, M. The impact of obstructive interval and sperm granuloma on outcome of vasectomy reversal. **The Journal of Urology**, Baltimore, v. 171, p. 304-306, 2004.

BRAUN, F.; HENNING, K.; HOLLE, J. *et al.* Experiences with a biological adhesive system (fibrin) in the dressing of kidney parenchymal wounds (animal experiments and 1<sup>st</sup> clinical experiences) **Zentralblatt für Chirurgie**, Leipzig, v.102, p.1235, 1977.

CAREY, P.O.; HOWARDS, S.S.; FLICKINGER, C.J. *et al.* Effects of granuloma formation at site of vasovasostomy. **The Journal of Urology**, Baltimore, v.139, p 853-856, 1988.

CAVALLARO, G.; CAVALLARO, E. Vasectomy reversal and spermatic granuloma: experimental investigation. **Microsurgery**, Hoboken, v. 23, p. 437-439, 2003.

CHAN, P.T.K.; LI, P.S.P; GOLDSTEIN, M. Microsurgical vasoepididymostomy: a prospective randomized study of 3 intussusception techniques in rats. **The Journal of Urology**, Baltimore, v.169, p.1924-1929, 2003.

CHATTERJEE, S.; RAHMAN, M.M.; LALORAYA, M. *et al.* Sperm disposal system in spermatic granuloma: a link with superoxide radicals. **International Journal of Andrology**, Copenhagen, v.24, p. 278-283, 2001.

CLARO, J.A.; KESSELRING, G.; FERREIRA, U. *et al.* Reversão microscópica da vasectomia. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v.18, n.6, p.485-487, jul. 1996.

COS, L.R.; VALVO, J.R.; DAVIS, R.S., *et al.* Vasovasostomy: current state of art. **Urology**, Belle Mead, v.22, p.567, 1983.

CRAIN, D.S.; ROBERTS, J.L; AMLING, C.L. Practice patterns in vasectomy reversal surgery: results of a questionnaire study among practicing urologists. **The Journal of Urology**, Baltimore, v. 171, n. 1, p. 311-315, 2004.

CRONKITE, E.P.; LOZNER, E.L.; DEEVER, J.M. Use of thrombin and fibrinogen in skin grafting. **Journal of the American Medical Association**, Chicago, v. 124, p. 976, 1944.

DONOVAN Jr., J.F. Microscopic vasovasostomy: current practice and future trends. **Microsurgery**, Hoboken, v. 16, p. 325-332, 1995.

DURÁN, A.B.; ROCA, J.P.L. Comparison of microsurgical vasovasostomy techniques in the rat. **European Urology**, Basel, v. 17, p. 241-242, 1990.

EDEN, C.G.; SULTANA, S.R.; MURRAY, K.H. *et al.* Extraperitoneal laparoscopic dismembered fibrin-sealant pyeloplasty: medium-term results. **British Journal of Urology**, Edinburgh, v. 80, p.382, 1997.

ENGELMANN, V.H.; SCHRAMEK, P.; TOMAMICHEL, G.; *et al.* Vasectomy reversal in central Europe: results of a questionnaire of urologists in Austria, Germany and Switzerland. **The Journal of Urology**, Baltimore, v. 41, p.64, 1990.

FAGUNDES, D.J.; TAHA, M.O.; RIVOIRE, H.C. Adesivos cirúrgicos: revisão e atualização. **Jornal Brasileiro de Medicina**, Rio de Janeiro, v. 82, n. 3, p. 101-103, 2002.

FENSTER, H.; McLOUGHLIN M.G. Vasovasostomy: microscopy versus macroscopic techniques. **Archives of Andrology**, London, v.7, p.201-204, 1981.



FISCHER, M.A.; GRANTMYRE, J.E. Comparison of modified one- and two-layer microsurgical vasovasostomy. **British Journal of Urology**, Edinburgh, v. 85, p. 1985-1088, 2000.

FLAM, T.A.; ROTH, R.A.; SILVERMAN, M.A. *et al.* Experimental study of hollow, absorbable polyglycolic acid tube as stent for vasovasostomy. **Urology**, Belle Mead, v.33, p.490, 1989.

FLICKINGER, C.J.; YEARBO, E.S.; HOWARDS, S.S.; *et al.* Incidence of spermatic granulomas and their relation to testis weight after vasectomy and vasovasostomy in Lewis rats. **Journal of Andrology**, Philadelphia, v.5, n.5, p. 285-291, 1986.

FLICKINGER, C.J.; HOWARDS, S.S.; HERR, J.C.; *et al.* Factors that influence fertility after vasovasostomy in rats. **Fertility and Sterility**, Birmingham, v. 56, n. 3, p. 555-562, 1991.

FOX, M. Vasectomy reversal – microsurgery for best results. **British Journal of Urology**, Edinburgh, v.73, p.449-453, 1994.

FURLAM, M. Structure of fibrinogen and fibrin. In: FRANCIS, J.L. (Ed.). **Fibrinogen fibrin stabilization, and fibrinolysis**. Chichester: VCH Publishers, 1988. p. 17-64.

FUSE, H.; KIMURA, H.; KATAYAMA, T. Modified one-layer vasovasostomy in vasectomized patients. **International Journal of Nephrology**, v.27, p.451-456, 1995.

GASKILL, D.M.; STEWART, S.; KIRSCH, W.M. *et al.* Sutureless vasovasostomy: new technique using experimental microclip in rat model. **Urology**, Belle Mead, v. 40, n. 2, p. 191-194, 1992.

GIBBLE, J.W.; NESS, P.M. Fibrin sealant: the perfect operative sealant? **Transfusion**, Philadelphia, v.30, p.741, 1990.

GOLDSTEIN, M.; LI, P.S.; MATTHEWS, G.J. Microsurgical vasovasostomy: the microdot technique of precision suture placement. **The Journal of Urology**, Baltimore, v.159, p.188-190, 1998.

GUYTON, A.C. Hemostasia e coagulação do sangue. In: \_\_\_\_\_. **Tratado de fisiologia médica**. 6.ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1984. p.78-83.

GREY, E. Fibrin as a hemostatic in cerebral surgery. **Surgery Gynecology and Obstetrics**, Chicago, v.21, p.452, 1915.

HADDAD FILHO, D.; MARQUES, A.; KAFEJIAN-HADDAD, A.P.; ZVEIBEL, D.K. Estudo comparativo das reações teciduais ao implante de pericárdio bovino e a inclusão de politetrafluoroetileno expandido em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 131-135, 2004.

HAGAN, K.F.; COFFEY, D.S. The adverse effect of sperm during vasovasostomy. **The Journal of Urology**, Baltimore, v.118, p.269, 1977.

HALBE, H.W. *et al.* **Tratado de ginecologia**. 3.ed. São Paulo: Roca, 2000, p. 1979.

HAFEZ, A.T.; EL-ASSMY, A.; HAMID, M.A. Fibrin glue for the suture-less correction of penile chordee: a pilot study in a rabbit model. **British Journal of Urology Internacional**, Oxford, v.94, n. 1, p. 433-436, 2004.

HEIDENREICH, A.; ALTMANN, P.; ENGELMANN, U.H. Microsurgical vasovasostomy versus microsurgical epididymal sperm aspiration/testicular extraction of sperm combined with intracytoplasmic sperm injection. A cost-benefit analysis. **European Urology**, Basel, v.37, n.5, p.609-614, 2000.

HENDRY, W.F.; LEVISON, D.; PARKINSON, C.M. *et al.* Testicular obstruction: clinico-pathological studies. **Annals Royal College of Surgeon of England**, London, v.72, p.396-407, 1990.

HERR, J.C.; *et al.* The influence of vasovasostomy on antisperm antibodies in rats. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 40, p. 353-360, 1989.

HOFFER, A.P. The ultrastructure of the ductus deferens in man. **Biology of Reproduction**, Madison, v. 14, p. 425-443, 1976.

HOWARDS, S.S. Vasovasostomy. **Urologic Clinics of North America**, Philadelphia, v.7, p.165, 1980.

INABA, Y.; FUJISAWA, M.; OKADA, H.; ARAKAWA, S.; KAMIDONO, S. The apoptotic changes of testicular germ cells in the obstructive azoospermia models of prepubertal and adult rats. **The Journal of Urology**, Baltimore, v. 160, n. 2, p.540-544, 1998.

IBGE. **IBGEteen: resultado do censo 2000 - fertilidade**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/ibgeteen/pesquisas/fecundidade.html#anc1>. Acesso em: 15 nov. 2003.

ICHINOSE, A.; DAVIES, E.W. Primary structure of human coagulation factor XIII. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, New York, v. 231, p. 15-27, 1988.

IGLESIAS, C.F.S.M. Vaso-vasostomia microquirurgica del conducto deferente: un modelo experimental. **Diagnóstico**, Lima, v.31, n.1-3, p.22-26, 1993.

JANETSCHEK, G.; DAFFNER, P.; PESCHEL, R. *et al.* Laparoscopic nephron sparing surgery for small renal cell carcinoma. **The Journal of Urology**, Baltimore, v.159, p.1152-1154, 1998.

JAROW, J.P.; BUDIN, R.E.; DYM, M. *et al.* Quantitative pathologic changes in the human testis after vasectomy. **New England Journal of Medicine**, Boston, v. 313, n. 20, p. 1252-1256, 1985.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, L. Histologia Básica. 8<sup>a</sup> ed. **Guanabara Koogan**, Rio de Janeiro, 1995.

JOHANNSEN, R.; BONIK, K. Integrated safety system for plasma-derived pharmaceuticals. **Biomedical Prog**, v. 10, p. 37-44, 1997.

KAFEJIAN-HADDAD, A.P.; HADDAD FILHO, D.; GUIDUGLI-NETO, J.; GOLDENBERG, S. Estudo comparativo das reações teciduais de silicone e politetrafluoroetileno expandido no dorso de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 12, p. 182-188, 1997.

KOBAYASHI, T.; SASAGAWA, I.; SUZUKI, Y. *et al.* Sutureless vasovasostomy using new vascular closure staples in rats. **Archives of Andrology**, New York, v.46, p.1-4, 2001.

KÜÇÜKAYDIN, M; HAMIT, O.; OLGUN, K. *et al.* Fibrin glue and conventional sutured vassal anastomosis in the rat. **Journal of Surgical Research**, London, v. 59, p. 601-605, 1995.

LAPINI, A.C.M., *et al.* The use of fibrin sealant in nephron sparing surgery for renal tumors. In: SCHLAG, G.; MELCHIOR, H.; WALLWIENER, D. (Ed.). **Gynecology, obstetrics, urology**. New York: Springer-Verlag, 1994. v. 7, p. 79.

LEE, H.Y. A 20-year experience with vasovasostomy. **The Journal of Urology**, Baltimore, v.136, p.413-415, 1986.

LEMACK, G.E.; GOLDSTEIN, M. Presence of sperm in the pre-vasectomy reversal semen analysis: incidence and implications. **The Journal of Urology**, Baltimore, v.155, p.167-169, 1996.

LEONARD, S.A.; THOMAS, R. New technique for microscopic vasovasostomy. **Urology**, BelleMeade, v. 23, p. 46-47, 1987.

MACHOVICH, R. **The thrombin**. Boca Raton: CRC, 1984.

MARMAR, J.L.; DeBENEDICTIS, T.J.; PRAISS, D.E. Use of papaverine during vasovasostomy. **Urology**, BelleMeade, v. 28, n. 1, p. 56-57, 1986.

MARTINOWITZ, U.; SCHULMAN, S. Fibrin sealant in surgery of patients with a hemorrhagic diathesis. **Thrombosis and Haemostasis**, Stuttgart, v.74, p.486-492, 1995.

MATRAS, H.; DINGES, H.P.; LASSMANN, H.; MAMOLI, B. Suture-free interfascicular nerve transplantation in animal experiments. **Wiener Medizinische Wochenschrift**, Wien, v.122, p.517-523, 1972.

MATSUDA, T. Diagnosis and treatment of post-herniorraphy vas deferens obstruction. **International Journal of Urology**, Tokyo, v. 7, p.35-38, 2000.

MATTHEWS, G.J.; SCHLEGEL, P.N.; GOLDSTEIN, M. Patency following

microsurgical vasoepididymostomy and vasovasostomy: temporal considerations. **The Journal of Urology**, Baltimore, v. 154, p. 2070-2073, 1995.

MAYO, W.J.; MAYO, C.H. Clinical Report. I. Complete section of the vas deferens, end-to-end union. **Annals of Surgery**, Boston, v. 21, p. 35, 1895.

McCALLUM, S., *et al.* Comparison of intussusception pull-through end-to-side and conventional end-to-side microsurgical vasoepididymostomy: prospective randomized controlled study in male wistar rats. **The Journal of Urology**, Baltimore, v.167, p. 2284-2288, 2002.

McDONAGH, J. Structure & Function of FXIII. In: COLMAN, R.W.; HIRSH, J.; MARDER, V.J.; SALZMAN, E.W. (Ed.). **Hemostasis & Thrombosis**: basic principles and clinical practice. Philadelphia: J.B. Lippincott, 1987. p.164-184.

MERGUERIAN, P.A.; RABINOWITZ, R. Dismembered nonstented ureterostomy using the carbon dioxide laser in the rabbit: comparison with suture anastomosis. **The Journal of Urology**, Baltimore, v.136, suppl. 1-2, p. 229-231, 1986.

MORANDINI, W.; ORTIZ, V. Adesivos biológicos em cirurgia. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v.7, n. 2, p. 80-85, 1992.

NAUGHTON, C.K.; MYLES, J.; THOMAS JR., A.J. The use of URYX for reversible vasectomy in a rabbit model. **Journal of Andrology**, New York, v.25, n. 4, p. 545-553, 2004.

NEIDERBERGER, C., *et al.* Vasovasostomy in rabbits using adhesive prepared from single human source. **The Journal of Urology**, Baltimore, v.149, p.183, 1993.

NG, I.S., *et al.* Methods for análisis of multiple cystic fibrosis mutations. **Human Genetics**, Berlin, v.87, p.613-617, 1991.

OWEN, E.R.; KAPILA, H. Vasectomy reversal. Review of 475 microsurgical vaso-vasostomies. **Medical Journal of Australia**, Sydney, v.140, p.398-400, 1984.

PAPADOPOULOS, I.; SCHNAPKA, B.; KELAMI, A. Use of human fibrin glue in the closure of vesicovaginal fistulas. **Urologia Internationalis**, Basel, v.40, p.141, 1985.

PARKHOUSE, H.; HENDRY, W.F. Vasal injuries during childhood and their effect on subsequent fertility. **British Journal of Urology**, Edinburgh, v.67, p.91-95, 1991.

PFAB, R., *et al.* Local hemostasis of nephrostomy tract with fibrin adhesive sealing in percutaneous nephrolithotomy. **European Urology**, Basel, v.13, p. 118, 1987.

POPPAS, D.P.; SOBLE, J. J.; NAKADA, S. Y. *et al.* Comparison of fibrin glue, laser weld, and mechanical suturing device for the laparoscopic closure of ureterotomy in a porcine model. **The Journal of Urology**, Baltimore, v.157, n.4, p.1487-1492, 1997.

POTTS, J.M., *et al.* Patient characteristics associated with vasectomy reversal. **The Journal of Urology**, Baltimore, v.161, n.6, p.1835-1839, June 1999.

RADOSEVICH, M.; GOUBRAN, H.I.; BURNOUF, T. Fibrin sealant: scientific rationale, production methods, properties, and current clinical use. **Vox Sanguinis**, Basel, v. 72, p.133, 1997.

REDMAN, J.F. Clinical experience with vasovasostomy utilizing absorbable intravascular stent. **Urology**, Ridgewood, v. 20, p.59-62, 1982.

REICHER, M.E., *et al.* Utilização da cola de fibrina em suturas vasculares: aspectos hemodinâmicos. **Folha Médica**, São Paulo, v. 121, n. 2, p. 107-111, 2002.

ROBERTS, H.J. **Is vasectomy safe?** West Palm Beach : Sunshine Academic 1979. p. 9.

RODRIGUES NETTO JÚNIOR, N. *et al.* Estudo experimental da reanastomose do canal deferente. **Jornal Brasileiro de Urologia**, Rio de Janeiro, v.12, n.3, p 97-100, 1986.

ROSS, L.S.; FLOM, L.S. Azoospermia: A complication of hydrocele repair in a fertile population. **The Journal of Urology**, Baltimore, v.146, p.852-853, 1991.

ROTHMAN, I., *et al.* Randomized clinical trial of an absorbable stent for vasectomy reversal. **The Journal of Urology**, Baltimore, v. 157, p.1697-1700, 1997.

SAEZ, F.; LÉGARÉ, C.; LAFLAMME, J.; SULLIVAN, R. Vasectomy-dependent dysregulation of a local renin-angiotensin system in the epididymis of the cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*). **The Journal of Andrology**, New York, v. 25, N. 5, P. 784-796, 2004.

SANDHU, D.P.S.; OSBORN, D.E.; MUNSON, K.W. Relationship of azoospermia to inguinal surgery. **International Journal of Andrology**. Copenhagen, v. 15, p.504-506, 1992.

SCHALENBERG, A. *et al.* Laser-assisted vasectomy reversal: experience in 32 patients. **The Journal of Urology**, Baltimore, v.143, p.528, 1990.

SCHEYNKIN, Y.R. *et al.* Comparison of absorbable and nonabsorbable sutures for microsurgical vasovasostomy in rats. **Urology**, Ridgewood, v. 53, p.1235-1238, 1999.

SCHIFF, J.; LI, P.S.; GOLDSTEIN, M. Toward a sutureless vasovasostomy: use of biomaterials and surgical sealant in a rodent vasovasostomy model. **The Journal of Urology**, Baltimore, v. 172, p. 1192-1195, 2004.

SCHNEIDER, J.A.; PATEL, V.J.; HERTEL, E. Closure of vesicovaginal fistulas from the urologic viewpoint with reference to endoscopic fibrin glue technique. **Zentralblatt für Gynakologie**, Leipzig, v.114, p.70, 1992.

SCHOYSMAN, R. Delay of appearance of spermatozoa in the ejaculate after vaso-epididymostomy and vaso-vasostomy. **Acta Europea Fertility**, Palermo, v. 21, p. 125-131, 1990.

SCHROEDER-PRINTZEN, I.; DIEMER, T.; WEIDNER, W. Vasovasostomy. **Urologia Internationalis**, Basel, v. 70, p.101-107, 2003.

SEAMAN, E.K.; KIM, E.D.; KIRSCH, A.J., *et al.* Results of laser tissue soldering in vasovasostomy and epididymovasostomy: experience in the rat animal model. **The Journal of Urology**, Baltimore, v.158, p.642-645, 1997.

SEDDON, H.J. Fibrin sutures of human nerves. **Lancet**, London, v. 2, p. 87, 1942.

SHARLIP, I.D. Vasovasostomy: comparison of two microsurgical techniques. **Urology**, Ridgewood, v.17, p.347-352, 1981.

SHEKARRIZ, B.; STOLLER, M.L. The use of fibrin sealant in urology. **The Journal of Urology**, Baltimore, v.167, p.1218-1225, 2002.

SIGMAN, M. The relationship between intravasal sperm quality and patency rates after vasovasostomy. **The Journal of Urology**, Baltimore, v. 171, n. 1, p. 307-309, 2004.

SILBER, S.J. Perfect anatomic reconstruction of vas deferents with a new microsurgical technique. **Fertility and Sterility**, Birmingham, v.28, p.1, 1977a.

\_\_\_\_\_. Microscopic vasectomy reversal. **Fertility and Sterility**, Birmingham, v.28, p.1-9, 1977b.

\_\_\_\_\_. Sperm granuloma and reversibility of vasectomy. **Lancet**, London, v. 2, p.588, 1977c.

\_\_\_\_\_. Microsurgery for vasectomy reversal and vasoepididymostomy. **Urology**, Belle Mead, v.23, p.505-523, 1984.

\_\_\_\_\_. Pregnancy after vaso-vasostomy for vasectomy reversal: a study of factors affecting long-term return of fertility in 282 patients followed for 10 years. **Human Reproduction**, Oxford, v.4, p.318-322, 1989.

SILVA, F.P. Estudo comparativo da reparação de lesões de baço com cianoacrilato e poliglecaprone em ratos (Tese de Mestrado). **Universidade Federal de São Paulo – Escola Paulista de Medicina**, 1998.

SILVERSTEIN, J.I.; MELLINGER, B.C. Fibrin glue vasal anastomosis compared to sutured technique of vasovasostomy. **The Journal of Urology**, Baltimore, v.143, p.328, 1990.

SILVERSTEIN, J.I.; MELLINGER, B.C. Fibrin glue vassal anastomosis compared to conventional sutured vasovasostomy in the rat. **The Journal of Urology**, Baltimore, v. 145, p. 1288, 1991.

SROUGI, M.; ARAP, S. Reconstrução microcirúrgica do canal deferente: experiência com 47 casos. **Jornal Brasileiro de Urologia**, Rio de Janeiro, v. 12, n.1 p.23-29, 1986.

TUNG, K.S.K. Allergic orchitis lesions are adoptively transferred from vasoligated guinea pigs to syngenic recipients. **Science**, Washington, v.201, p. 833-835, 1978.

VANKEMMEL, O., *et al.* Delayed vasovasostomy: experimental study using fibrin glue. **European Urology**, Basel, v.31, n.2, p.182-186, Feb. 1997.

VANKEMMEL, O., *et al.* Vasal reanastomosis using fibrin glue combined with sutures: which combination of sutures in a delayed protocol? **European Urology**, Basel, v. 33, p. 318-322, 1998.

VANKEMMEL, O., *et al.* Evaluation of a fibrin sealant free of bovine-derived components in an experimental vas anastomosis study. **Urologia International**, Basel, v.65, n.4, p.196-199, 2000.

WEISKE, W.H. Ergebnisse bei 376 refertilisierungsoperationen nach zwei jahren. **Urologe A**, Berlin, v.37 (suppl.), p.567, 1997.

WEISS, J.N.; MELLINGER, B.C. Fertility rates with delayed fibrin glue: vasovasostomy in rats. **Fertility and Sterility**, Birmingham, v. 57, n. 4, p. 908-911, 1992.

YARBO, E.S.; HOWARDS, S.S. Vasovasostomy. **The Urology Clinical of North America**, Philadelphia, v.14, p.515, 1987.

YAMAMOTO, M. *et al.* Surgical outcome of microscopic vasectomy reversal: an analysis of 30 cases. **Nagoya Journal of Medical Science**, Nagoya, v.60, p. 37-42, 1997.

## **ANEXOS**

---



## APÊNDICE 1

### CARACTERÍSTICAS OPERATÓRIAS DOS ANIMAIS DO GRUPO CONTROLE (GRUPO I)

N	PESO	TEMPO OPER	TEMPO ANASTOMOSE	TEMPO ANESTESIA	GRAVIDEZ	PERMEA	COMPLICA- ÇÕES	ÓBITO
1	280	20		50	S			N
2	260	17		44	S			N
3	230	10		160	S			N
4	240	12		150	S		Dei + Inf	N
5	220	10		145	S			N
6	245	13		155	S			N
7	254	9		67	S			N
8	276	11		66	S		Inf	N
9	225	7		114	S			N
10	290	4		34	S			N
11	304	11		140	S			N
12	278	8		15	N		Inf	N
13	270	9		21	S			N
14	250	10		22	S			N
15	255	9		34	N			N
16	220	11		21	S			N
17	309	10		15	N			N
18	270	7		17	S			N
19	265	9		15	S			N
20	280	11		23	S			N
	5221	208 10,4			S=90%			

NOTA: Inf= Infecção da ferida operatória; Dei= deiscência da sutura cutânea; S= sim; N= não

## APÊNDICE 2

### CARACTERÍSTICAS OPERATÓRIAS DOS ANIMAIS DO GRUPO COM SUTURA CONVENCIONAL (GRUPO II)

N	PESO (gramas)	TEMPO OPERATÓRIO (min)	TEMPO ANASTOMOSE (min)	FIOS	COMPLI- CAÇÕES	ÓBITO	PRENHEZ
1	279	60	45	1		N	S
2	280	50	30	1		N	S
3	263	50	27	2		N	S
4	264	42	33	1		N	S
5	298	72	43	1	Inf	N	N
6	284	30	20	2		N	S
7	288	38	23	1		N	S
8	234	44	27	1		N	N
9	277	36	21	1		N	S
10	278	41	22	1	Inf	N	S
11	228	43	18	1		N	N
12	250	40	19	1	Inf	N	S
13	264	53	14	1		N	S
14	246	44	27	1		N	S
15	266	32	16	2	Inf	N	N
16	263	30	22	1		N	N
17	278	27	17	1		N	S
18	302	38	21	1		N	S
19	300	24	19	1		N	S
20	278	40	28	1		N	N
	5420	834	492	23			S=70%
		41,7	24,6				14

NOTA: Inf= Infecção da ferida operatória; S= sim; N= não

## APÊNDICE 3

### CARACTERÍSTICAS OPERATÓRIAS DOS ANIMAIS DO GRUPO COM ADESIVO DE FIBRINA (GRUPO III)

N	PESO (gramas)	TEMPO OPERATÓRIO (minutos)	TEMPO ANASTOMOSE (minutos)	GOTAS ADESI- VO	COMPLI- CAÇÕES	ÓBITO	PRENHEZ
1	300	30	3	4	Inf + A	N	N
2	300	30	5	3		N	S
3	300	30	4	4	Inf	N	S
4	220	32	12	3		N	N
5	225	34	11	2		N	S
6	220	32	14	3	Inf	N	N
7	235	32	12	4		N	S
8	221	31	7	3		N	S
9	300	25	15	5		N	S
10	265	28	7	3		N	S
11	285	32	13	5		N	N
12	248	35	9	4		N	S
13	225	22	11	4		N	S
14	304	17	14	4		N	N
15	247	25	12	3		N	N
16	268	29	8	3		N	S
17	244	34	6	5		N	S
18	287	27	9	4		N	S
19	225	30	10	4		N	S
20	297	16	5	5		N	S
	5216	571 28,55	187 9,35	75			S=65%

NOTA: Inf= infecção de ferida operatória; A= atrofia testicular; S= sim; N= não

## APÊNDICE 4

### RESULTADOS HISTOLÓGICOS E PERMEABILIDADE NOS ANIMAIS DO GRUPO COM SUTURA CONVENCIONAL (GRUPO II)

N	GRANULOMA	EXSUDATO NEUTROFÍLICO	REEPITELIZAÇÃO DOS DUCTOS	REORGANIZAÇÃO DAS FIBRAS DE COLÁGENO	PERMEABILIDADE (i + ii + iii)
1	5	2	1	1	i+ii+iii
2	Zero	2	1	1	i+ii+iii
3	Zero	2	1	1	i+ii+iii
4	4	2	1	1	i+iii
5	3	2	1	1	
6	5	2	2	1	i+ii+iii
7	6	2	1	1	i+ii+iii
8	7	2	3	2	iii
9	4	2	2	1	i+ii+iii
10	5	2	1	1	i+ii+iii
11	7	1	1	2	i+iii
12	5	2	2	1	i+ii+iii
13	7	2	3	1	i+ii+iii
14	3	2	1	1	i+ii+iii
15	1	2	2	3	i+ii+iii
16	Zero	2	1	1	i+iii
17	5	1	2	1	i+ii+iii
18	Zero	2	3	2	i+ii+iii
19	5	2	1	1	i+ii+iii
20	zero	2	1	2	i+ii
	72 (3,6)				

NOTA: i= saída de fluído durante ordenha manual; ii= exame microscópico da secreção do ductal distal a anastomose; iii= passagem de azul de metileno pela anastomose por gravidade

## APÊNDICE 5

### RESULTADOS HISTOLÓGICOS E PERMEABILIDADE NOS ANIMAIS DO GRUPO COM ADESIVO DE FIBRINA (GRUPO III)

N	GRANULOMA	EXSUDATO NEUTROFÍLICO	REEPITELIZAÇÃO DOS DUCTOS	REORGANIZAÇÃO DAS FIBRAS DE COLÁGENO	PERMEABILIDADE (i + ii + iii)
1	4	2	2	1	
2	5	2	1	1	i+ii+iii
3	5	1	1	1	i+ii+iii
4	4	2	2	2	
5	Zero	2	1	2	i+ii+iii
6	6	2	2	3	i+ii+iii
7	2	2	3	1	i+ii+iii
8	4	1	3	1	i+ii+iii
9	Zero	2	1	2	i+ii+iii
10	5	2	3	2	i+ii+iii
11	6	2	1	1	
12	8	2	2	1	i+ii+iii
13	5	2	1	1	i+ii+iii
14	6	2	3	1	i+ii+iii
15	3	2	1	1	
16	4	2	1	2	i+ii+iii
17	Zero	2	2	1	i+ii+iii
18	5	1	1	2	i+ii+iii
19	7	2	3	1	i+ii+iii
20	5	2	1	1	i+ii+iii

NOTA: i= saída de fluído durante ordenha manual; ii= exame microscópico da secreção do ductal distal a anastomose; iii= passagem de azul de metileno pela anastomose por gravidade

## APÊNDICE 7

## 1. Dados do Per-operatório

Data:

Grupo:

Número do rato:

Peso:

Tempo Operatório:

(min.)

Tempo da anastomose:

(min.)

Anestesia:

Dose do anestésico:

Tempo de Anestesia:

(min.)

Adesivo de fibrina:

(gotas)

Fio mononylon:

(unidade)

Intercorrências:

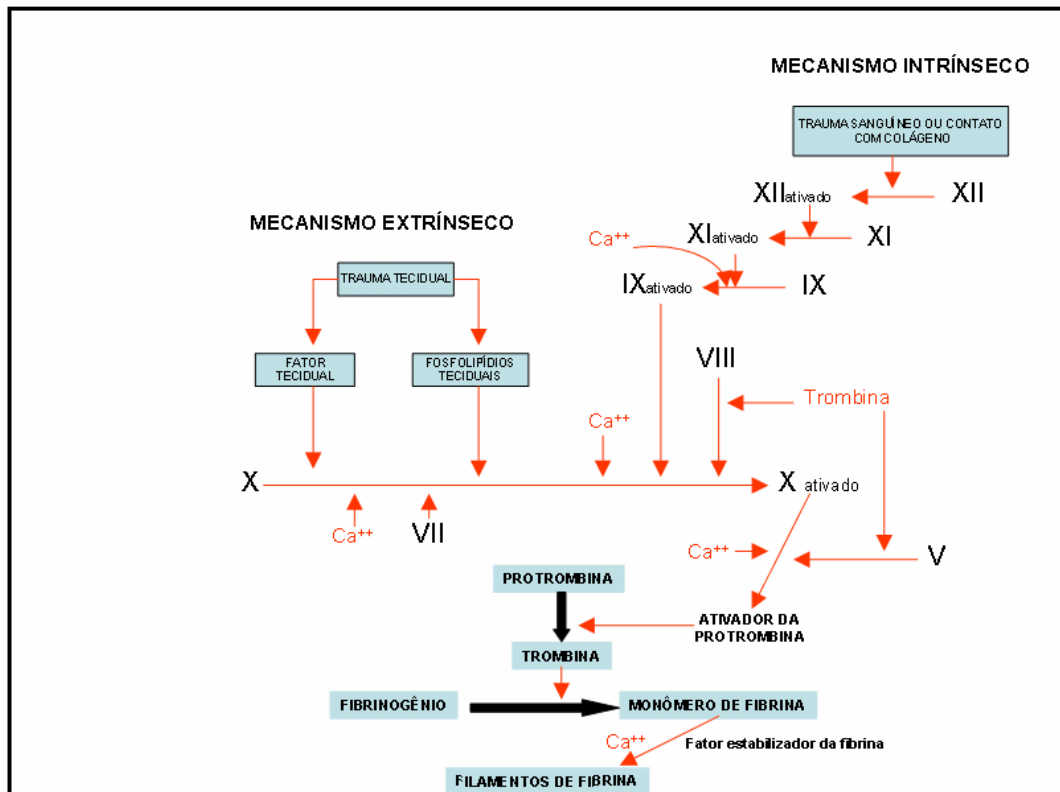
Vasectomia direita: ☐ Sem intercorrência ☐

## **2. Dados do Pós-operatório**

[illegible]

## ANEXO 1

MECANISMO EXTRÍNSECO E INTRÍNSECO QUE DESENCADEIA A COAGULAÇÃO DO SANGUE HUMANO COM A CONVERSÃO DE PROTROMBINA EM TROMBINA E POLIMERIZAÇÃO DE FIBRINOGENIO PARA FORMAR FILAMENTOS DE FIBRINA (conforme GUYTON, 1984).



NOTA:  $Ca^{++}$  = cálcio;

## ANEXO 2

### CONSTITUINTES DO ADESIVO DE FIBRINA BERIPLAST-P®

Combi-set é constituído por dois frascos contendo liofilizados brancos (frascos 1 e 3) e dois frascos contendo os diluentes apropriados (frascos 2 e 4).

Composição - cada 1 mililitro (mL) contém:

FRASCO 1 – Substância seca total ..... 115 – 233 mg  
Fibrinogênio.....65-115 mg  
Fator XIII .....40-80 U\*

FRASCO 2 – Aprotinina de pulmão bovino..... 1000 UIC\*\* corresponde a 0,56 PEU\*\*\*

FRASCO 3 – Trombina .....400-600 UI\*\*\*\*

FRASCO 4 – Cloreto de cálcio diidratado.....5,88 mg

NOTA: \* uma unidade (U) é equivalente à atividade de Fator XIII de 1 ml de plasma fresco citratado (conjunto

de plasma) de doadores saudáveis;

\*\* UIC= Unidade Inibidora de Calecreína;

\*\*\* PEU= Ph. Eur. Units;

\*\*\*\* UI= unidades internacionais